

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LEANDRO ROSSI CASTILHO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE
ACESSO RESTRITO MAGNÉTICO E SEU USO PARA EXTRAÇÃO DE
CHUMBO E CÁDMIO EM AMOSTRAS DE LEITE**

ALFENAS - MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LEANDRO ROSSI CASTILHO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOTUBOS DE CARBONO DE
ACESSO RESTRITO MAGNÉTICO E SEU USO PARA EXTRAÇÃO DE
CHUMBO E CÁDMIO EM AMOSTRAS DE LEITE**

Tese como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor
em Química pela Universidade Federal de Alfenas
Área de concentração: Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo
Coorientadora: Profa. Dra. Giovana Martins Lima

ALFENAS - MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Castilho, Leandro Rossi.

Síntese e caracterização de nanotubos de carbono de acesso restrito magnético e seu uso para extração de chumbo e cádmio em amostras de leite. / Leandro Rossi Castilho. - Alfenas, MG, 2023.

91 f. : il. -

Orientador(a): Eduardo Costa Figueiredo.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Nanotubos de carbono magnético de acesso restrito. 2. Chumbo. 3. Cádmio. 4. Espectrometria de absorção atômica. I. Figueiredo, Eduardo Costa, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer em primeiro lugar a Deus. À minha querida esposa, Marcela M. de Lima Castilho, por ser minha grande companheira; minha filha Rafaela Lima Castilho, a meus pais, Cristiano de Castilho e Maria José da Silva Rossi Castilho por serem exemplos em minha vida.

Agradeço também aos meus mentores Eduardo Costa de Figueiredo, Giovana Martins Lima e Ayla Campos do Lago, que foram grandes bússolas neste trabalho.

Agradeço a meus amigos, com os quais tenho prazer de viver grandes histórias, principalmente Raphael Borges Gomes, Mariana Azevedo Rosa e Vanessa dos Santos Fernandes Corrêa e a todos que já cruzaram o meu caminho, pois tenho certeza de que de alguma maneira me deixaram alguma lição, contribuindo com este trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL, pela oportunidade concedida e ao LATF por ter me recebido de braços abertos.

Agradeço ao Instituto Federal do Sul de Minas Gerais campus Machado instituição em que trabalho, pela compreensão e companheirismo de meus colegas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da “Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)” e a da “Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UNIFAL-MG.

RESUMO

Nesse trabalho é proposta uma aplicação inédita para os nanotubos de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNTs) na extração de cádmio e chumbo em leite. Esses materiais foram obtidos pela modificação de nanotubos de carbono (CNTs) comerciais com nanopartículas de magnetita e a subsequente funcionalização de superfície com uma camada quimicamente reticulada de albumina de soro bovino (BSA). Os M-RACNTs foram empregados como sorventes para a extração e pré-concentração de Pb^{2+} e Cd^{2+} diretamente em amostras de leite, utilizando a técnica de extração em fase sólida dispersiva magnética. A mineralização da amostra não foi necessária. Por serem materiais magnéticos, os M-RACNTs puderam ser separados da amostra com auxílio de um ímã de neodímio, e os íons metálicos foram determinados por espectrometria de absorção atômica com chama. Os parâmetros de extração foram avaliados por otimização multivariada (planejamento fatorial e matriz de Doehlert). O método validado mostrou-se simples, rápido, sensível, seletivo, robusto e preciso. Além disso, coeficientes de determinação $\geq 0,99$ e limites de quantificação de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ foram obtidos, tanto para os íons Pb^{2+} quanto para os íons Cd^{2+} . O método desenvolvido foi capaz de determinar ambos os metais em concentrações abaixo dos limites máximos de resíduos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (20 e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb^{2+} e Cd^{2+} , respectivamente), demonstrando que M-RACNTs são materiais promissores para extração de metais de amostras complexas, sem a necessidade de procedimentos de mineralização.

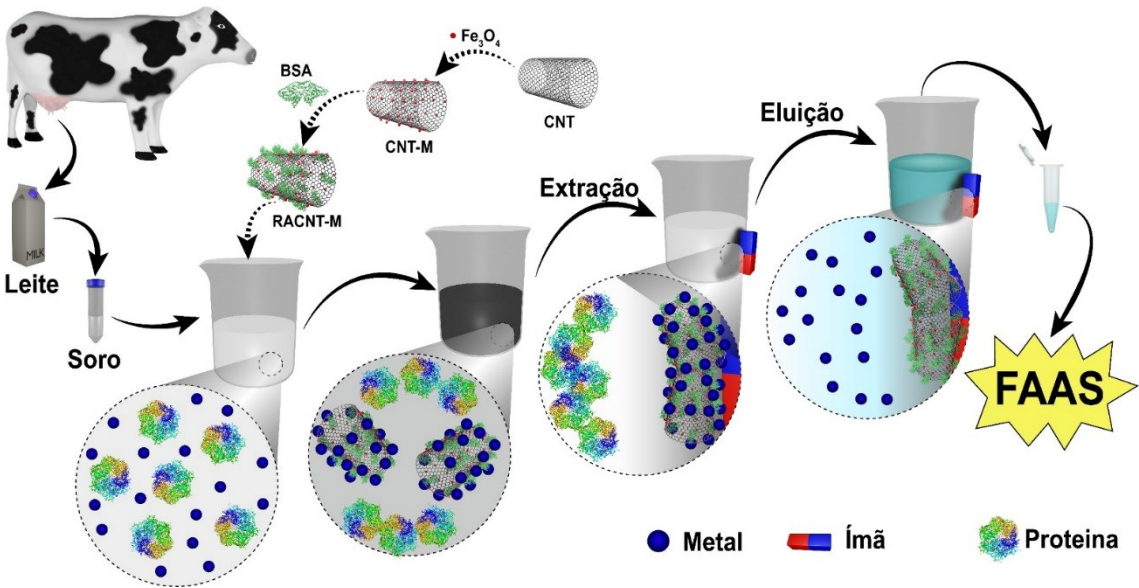
Palavras-chave: Chumbo, Cádmio, Nanotubos de carbono magnético de acesso restrito, espectrometria de absorção atômica.

ABSTRACT

In this work, magnetic restricted access carbon nanotubes (M-RACNTs) were used to extract lead and cadmium from untreated milk sample. These materials were obtained by modifying commercial carbon nanotubes (CNTs) with magnetite nanoparticles and subsequent surface functionalization with a chemically modified layer of cross-linked bovine serum albumin (BSA). The M-RACNTs were employed as sorbents for the extraction and pre-concentration of Pb^{2+} and Cd^{2+} directly from milk samples, using magnetic dispersive solid phase extraction. Thus, the mineralization step of the biological sample was not need. Because they are magnetic materials, the M-RACNTs could be separated from the sample with a neodymium magnet, and the metals were determined by flame atomic absorption spectrometry. The extraction parameters were evaluated by multivariate optimization (factorial design and Doehlert matrix). The validated method proved to be simple, fast, sensitive, selective, robust and precision. In addition, coefficients of determination ≥ 0.99 and the limit of quantification of $10 \mu\text{g L}^{-1}$ were obtained for Pb^{2+} and Cd^{2+} ions. The developed method was able to determine both metals in concentrations below the maximum residue limits established by the National Health Surveillance Agency for milk (20 and $50 \mu\text{g L}^{-1}$ for Pb^{2+} and Cd^{2+} , respectively), demonstrating that M-RACNTs are promising materials for extraction of metals from complex samples, without the need for mineralization procedures.

Keywords: Lead, Cadmium, Restricted access magnetic carbon nanotubes, Flame atomic absorption spectrometry.

Resumo gráfico



LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	- Espectrometria de absorção atômica, do inglês <i>atomic absorption spectrometry</i>
AC	- Concentração real
Anvisa	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BSA	- Albumina sérica bovina, do inglês <i>bovine serum albumin</i>
C	- Isoterma linear
CE	- Concentração do eluente
CNT	- Nanotubo de carbono, do inglês <i>carbon nanotube</i>
DP	- Desvio Padrão
DPR%	- Desvio Padrão Relativo
d-SPE	- Extração em fase sólida dispersiva, do inglês <i>dispersive solid extraction</i>
E%	- Erro relativo
F	- Isoterma de Freundlich
FAAS	- Absorção atômica com chama, do inglês <i>flame atomic absorption spectrometry</i>
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	- Infravermelho com transformada de Fourier, do inglês <i>transformed Fourier infrared</i>
H	- Isoterma de alta afinidade, do inglês <i>high affinity</i>
GFAAS	- Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, do inglês <i>graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>
ICP-MS	- Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>
ICP-OES	- Espectrometria de emissão atômica com plasma de indutivamente acoplado, do inglês <i>inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i>
IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
JECFA	- <i>Joint Expert Committee on Food Additive</i>
LLE	- Extração líquido-líquido, do inglês <i>liquid liquid extraction</i>
LMP	- Limite máximo permitido

LOD	- Limite de detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
LOQ	- Limite de quantificação, do inglês <i>limit of quantification</i>
M	- Massa do sorvente
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MPs	- Partículas magnéticas, do inglês, <i>magnetic particles</i>
M-CNT	- Nanotubos de carbono magnético, do inglês <i>magnetic carbon nanotube</i>
MERCOSUL	- Mercado Comum do Sul
M-RACNT	- Nanotubos de carbono magnético de acesso restrito, do inglês <i>magnetic restricted access carbon nanotube</i>
MRL	- Limite máximo de resíduo, do inglês <i>maximum residue level</i>
MSR	- Metodologia de superfície de resposta, do inglês <i>surface response methodology</i>
PNCRC	- Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal
qe	- Capacidade de adsorção
qt	- Capacidade de adsorção em um determinado tempo
R ²	- Coeficiente de determinação
RAM	- Material de acesso restrito, do inglês <i>restricted access materials</i>
RC	- Concentração nominal
RDC	- Resolução da diretoria colegiada
S	- Isoterma sigmoide
SPE	- Extração em fase sólida, inglês <i>solid phase extraction</i>
TE	- Tempo de extração
TD	- Tempo de dessorção
TG	- Análise termogravimétrica
TEM	- Microscopia eletrônica de transmissão, do inglês <i>transmission electron microscopy</i>
V	- Velocidade de agitação
VA	- Volume amostra
VE	- Volume do eluente

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Folha de grafite sendo enrolado em forma de cilindro (a). Nanotubos de carbono de parede simples (b). Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (c).	20
Figura 2	- Exemplo da adsorção de íons metálicos pelos nanotubos de carbono.....	21
Figura 3	- Esquema de um material de acesso restrito com mecanismo de exclusão por barreiras físicas e químicas.....	23
Figura 4	- Representação esquemática da extração em fase sólida magnética.....	26
Figura 5	- Formas comuns de uma isoterma de adsorção.....	35
Figura 6	- Classificação das isotermas e subgrupos conforme Giles.....	36
Figura 7	- Tipos de isotermas de acordo com a classificação da IUPAC.....	37
Figura 8	- Representação do planejamento Doehlert para dois fatores.....	41
Figura 9	- Representação de uma tabela mostrando a aplicação da matriz de Doehlert para dois, três e quatro fatores.....	42
Figura 10	- Procedimento de síntese do nanotubo magnético de acesso restrito.....	47
Figura 11	- Distribuição de espécie de chumbo e cádmio em função do pH.....	51
Figura 12	- Procedimento de extração de chumbo ou cádmio.....	52
Figura 13	- Imagens obtidas a partir da microscopia eletrônica de transmissão: magnetita (A), nanotubo de carbono magnético (B), e nanotubo de carbono magnético de acesso restrito (C).....	56
Figura 14	- Curva TG do Fe_3O_4 , BSA, CNT, M-CNT e M-RACNT em atmosfera de ar sintético.....	57
Figura 15	- Espectros de infravermelho para os M-RACNTs e seus intermediários de síntese.....	58
Figura 16	- Potencial zeta em função do pH. CNT: nanotubos de carbono; BSA: albumina sérica bovina, MCNT: nanotubo de carbono magnético, e M-RACNT: nanotubo de carbono magnético de acesso restrito.....	60
Figura 17	- Difractogramas obtidos para magnetita (Fe_3O_4), nanotubo de carbono (CNT), nanotubo de carbono magnético (M-CNT), nanotubo de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNT).....	62
Figura 18	- Comparação da exclusão de albumina sérica bovina (BSA) pelos nanotubos magnético (M-CNT) e nanotubos magnético de acesso restrito (M-RACNT) em dois pHs diferentes.....	63

Figura 19	- Cinéticas e isothermas obtidas para cádmio (A e C) e para chumbo (B e D).....	66
Figura 20	- Otimização do pH para o processo de extração de chumbo e cádmio, partindo da concentração de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ambos.....	69
Figura 21	- Diagrama de Pareto para chumbo (A) e cádmio (B).....	70
Figura 22	- Superfície de resposta para o Pb^{2+} , a partir do estudo do tempo de extração (TE) e da concentração do eluente.....	72
Figura 23	- Superfície de resposta para o Cd^{2+} , a partir do estudo do tempo de extração (TE) e do volume de eluição (VE).....	73
Figura 24	- Curva de calibração para chumbo (esquerda) e curva de calibração para cádmio (direita). Ambas as curvas foram obtidas a partir de leite fortificado, extraído com os M-RACNTs e analisados por absorção atômica.....	75
Figura 25	- Diagrama de Pareto obtido após o ensaio de robustez para Pb^{2+} (A) e Cd^{2+} (B)....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Técnica de determinação de metais em amostras de leite e derivados.....	30
Tabela 2	- Parâmetros para avaliar a robustez do método proposto.....	54
Tabela 3	- Resultados dos modelos de cinéticas ajustados.....	64
Tabela 4	- Resultados para os modelos de isotermas ajustados.....	67
Tabela 5	- Design fatorial 2^{5-1} , com 16 experimentos (32 em duplicata); e os sinais analíticos para Pb^{2+} e Cd^{2+}	69
Tabela 6	- Níveis experimentais e respostas analíticas otimizadas pela matriz de Doehlert.....	71
Tabela 7	- Condições otimizadas para o processo de extração e eluição dos metais pelos nanotubos de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNT).....	73
Tabela 8	- Figuras de mérito para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} em amostras de leite fortificadas.....	75
Tabela 9	- Comparação do método proposto com outros da literatura.....	77

Sumário

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 NANOTUBOS DE CARBONO	19
2.2 MATERIAIS DE ACESSO RESTRITO	21
2.3 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA	24
2.4 CHUMBO E CÁDMIO EM ALIMENTOS	26
2.5 TÉCNICAS DE ANÁLISES E LIMITES DE METAIS EM LEITE	28
2.6 ESTUDO DE ADSORÇÃO	32
2.6.1 Modelo cinético de pseudo-primeira ordem	33
2.6.2 Modelo cinético de pseudo-segunda ordem	33
2.6.3 Outros modelos de cinética	34
2.6.4 Classificação das isothermas de adsorção	34
2.6.5 Modelos de isothermas de adsorção	38
2.7 MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO E PARÂMETROS EXPERIMENTAIS	38
3. JUSTIFICATIVA	43
4. OBJETIVOS	44
4.1 Objetivo Geral	44
4.2 Objetivos Específicos	44
5 MATERIAIS E MÉTODOS	45
5.1 REAGENTES, AMOSTRAS E SOLUÇÕES	45
5.2 INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS	45
5.3 SÍNTESE DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO	46
5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO	47

5.5 EXCLUSÃO DE PROTEÍNAS	48
5.6 CINÉTICAS E ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	49
5.7 OTIMIZAÇÃO DO pH PARA O PROCESSO DE EXTRAÇÃO	50
5.8 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA PARA O PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO	51
5.9 PROCESSO OTIMIZADO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA	51
5.10 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS	53
5.10.1 ENSAIO DE ROBUSTEZ	53
5.11 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS	54
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
6.1 SÍNTESE DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO	55
6.2 CARACTERIZAÇÃO DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO	55
6.2.1 Microscopia eletrônica de transmissão	56
6.2.2 Análises termogravimétrica	57
6.2.3 Espectroscopia no infravermelho	58
6.2.4 Potencial zeta	59
6.2.5 Difração de raio-X	60
6.3 EXCLUSÃO DE PROTEÍNAS	62
6.4 CINÉTICAS E ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	64
6.5 OTIMIZAÇÃO DO pH PARA A EXTRAÇÃO	67
6.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA PARA O PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO	69
6.7 AVALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS	74
6.8 ENSAIO DE ROBUSTEZ	76
6.9 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS	77

7 CONCLUSÃO	79
8 REFERÊNCIAS	80

1 INTRODUÇÃO

Alguns metais presentes na natureza têm importante papel metabólico para os organismos e, de acordo com suas concentrações, podem ser classificados em macrominerais, microminerais, ou elementos traço. Considerando a função biológica, estes últimos podem ser subdivididos em: essenciais (V, Mo, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sn, Se, F, I); com função biológica não conhecida (B, Al, Ga, In, Tl, Ge, Be, Rb, Cs, Te, Po, Br, entre outros); ministrados em medicamentos (Li, Y, Pt, Ag, Au, Sb, Bi); e tóxicos (Cr, Cd, Hg, Pb, As) (BARBOSA *et al.*, 2015; BURGUERA; BURGUERA, 2009). Quando presentes em concentrações superiores aos níveis naturais, os metais apresentam toxicidade que geram uma grande preocupação para a saúde dos indivíduos expostos.

O emprego de tecnologias inadequadas e o uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura e em diversas áreas de produção têm ocasionado a contaminação de alimentos por metais como o chumbo e o cádmio (GONÇALVES; MESQUITA; GONÇALVES, 2008). O chumbo pode causar distúrbios do Sistema Nervoso Central e Periférico, problemas gastrointestinais, hipertensão arterial, anemias e insuficiência renal, enquanto o cádmio pode causar alterações neurológicas e renais, câncer, entre outros (BALALI-MOOD *et al.*, 2021).

A segurança alimentar tornou-se um tema relevante devido à crescente busca por uma melhor qualidade de vida e o direito do consumidor em adquirir produtos seguros para a saúde. No entanto, ainda existem vários relatos na literatura de contaminação de leite por metais pesados (BOUDEBBOUZ *et al.*, 2022; FEIZI *et al.*, 2020). Dessa forma, métodos analíticos são necessários para avaliar a segurança desses alimentos.

Quando se trata de matrizes complexas, como o leite, o preparo de amostras é uma etapa crucial, considerando a complexidade de sua composição: proteínas, gorduras e açúcares, e essa etapa analítica ainda pode ser considerada um desafio para os laboratórios. Protocolos de mineralização usando ácidos e agentes oxidantes têm sido preferidos, uma vez que a matriz orgânica é destruída e os metais permanecem em condições que podem ser analisadas por espectrometria de absorção atômica (AAS) (BARBOSA *et al.*, 2016). Por outro lado, as temperaturas drásticas e as pressões necessárias, juntamente com os reagentes empregados, tornam o processo perigoso e demorado. Como alternativas, diversos solventes têm sido

empregados em técnicas de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) para a determinação de metais em diferentes amostras.

Os nanotubos de carbono (CNTs, do inglês *carbon nanotubes*) têm recebido destaque entre esses sorventes, uma vez que apresentam elevada capacidade adsortiva (BARBOSA *et al.*, 2015; HERBST; FERNANDES MACÊDO; ROCCO, 2004). Contudo, o uso de CNTs é limitado no tratamento de amostras ricas em proteínas, pela possibilidade de ligação destas macromoléculas a superfície dos CNTs, causando obstrução dos sítios de ligação. Para reverter esse cenário, Barbosa e colaboradores (2015) modificaram a superfície de CNTs, desenvolvendo os nanotubos de carbono de acesso restrito (RACNTs, do inglês, *restrict access carbon nanotubes*). O novo material foi obtido pelo recobrimento dos CNTs com uma camada externa de BSA quimicamente entrecruzada. Assim, os RACNTs podiam capturar os metais e excluir as macromoléculas interferentes presentes na matriz, concomitantemente. O mecanismo de exclusão se deve à repulsão eletrostática entre as proteínas da amostra e da camada de BSA, ambas negativamente carregadas quando em meios com pHs acima dos seus pontos isoelétricos (BALDUINO; FIGUEIREDO; BARBOSA, 2018).

Estudos mostraram que a utilização de CNTs na extração em fase sólida dispersiva (d-SPE, do inglês *dispersive solid extraction*) teve eficiência comparada com sorventes tradicionais, como a C18, amina primária-secundária e carbono preto grafitado, tanto para a limpeza dos extratos como para recuperações dos analitos (SHENG *et al.*, 2010). No entanto, devido a sua natureza hidrofóbica e ao seu tamanho, os CNTs tendem a se agregar e apresentar resistência contra fluxo de um líquido, dificultando o procedimento de d-SPE (YU; XIE, 2012). Para contornar tal problema, funcionalizações, como a oxidação e a inserção de partículas magnéticas (MPs, do inglês, *magnetic particles*), podem ser realizadas, tornando-os nanotubos de carbonos magnéticos (M-CNTs). Os M-CNTs podem ser facilmente separados do meio com a ajuda de um ímã (DANESHVAR TARIGH; SHEMIRANI, 2013) e podem evitar o entupimento, problema frequentemente observado em cartuchos e colunas empacotadas com sorventes (NAKHJAVAN; BLAND; KHOSRAVIFARD, 2021).

Em 1973, Robinson P. J. e colaboradores. relataram a tecnologia de suporte magnético, que desde então têm atraído grande interesse devido a sua vasta gama de aplicações (P. J. ROBINSON, P. DUNNILL, 1973). As vantagens dos materiais magnéticos relacionam-se à

facilidade de produzi-los em grande quantidade por meio de um método simples; à alta capacidade de adsorção, considerando a sua grande área de superfície; às fortes propriedades magnéticas; às baixas toxicidades e ao fato de que podem ser facilmente isolados de soluções com a aplicação de um campo magnético externo (MEHDINIA; ROOHI; JABBARI, 2011). Os materiais magnéticos podem ser obtidos a partir da incorporação de nanopartículas de óxido de ferro e óxido de cobalto em sorventes convencionais (CHEN *et al.*, 2009).

Com base na alta capacidade e dos RACNTs de excluir proteínas e nas vantagens do uso dos materiais magnéticos em d-SPE, em 2020, nosso grupo de pesquisa incorporou nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) em RACNTs, resultando em nanotubos de carbono de acesso restrito magnéticos (M-RACNTs) (CAMPOS DO LAGO *et al.*, 2020; FRUGERI *et al.*, 2020). Este novo material foi usado com sucesso para extrair organofosforados de amostras de leite. Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo a avaliação do desempenho dos M-RACNTs na inédita extração de chumbo e cádmio em amostras de leite, seguido de análise em FAAS.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

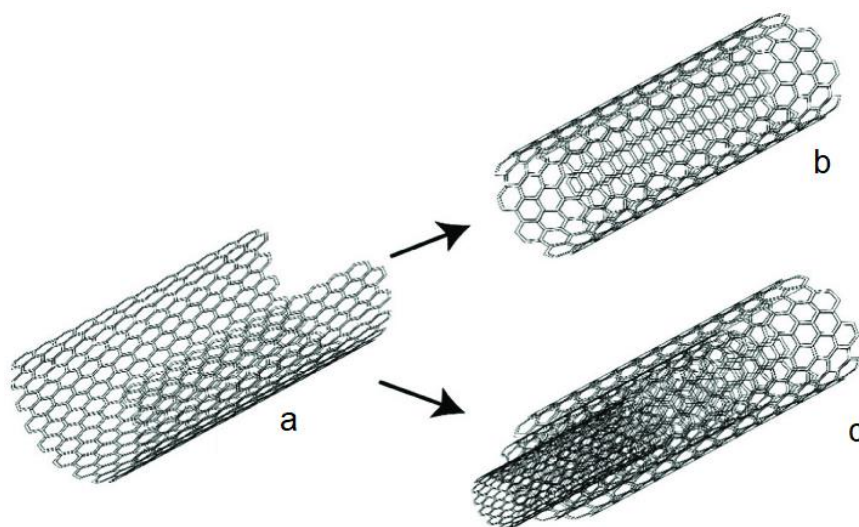
Nos tópicos a seguir serão apresentados temas importantes para o entendimento do presente trabalho.

2.1 NANOTUBOS DE CARBONO

A nanotecnologia vem, ao longo das últimas décadas, despertando grande interesse na comunidade científica devido as suas diversas possibilidades de aplicação. Produtos nanotecnológicos já podem ser encontrados nas áreas biotecnológicas, biológicas, farmacêuticas e industriais (desenvolvimento e fabricação de circuitos eletrônicos, produtos esportivos, roupas inteligentes, etc.) (ZARBIN, 2007). Dentre os nanomateriais, os CNTs são amplamente utilizados devido às suas propriedades favoráveis e merecem destaque.

Sumio Iijima (1991) inicialmente propôs os CNTs e os descreveu como estruturas cilíndricas e ocas, compostas por uma camada circular de carbonos ligados entre si em configuração sp^2 , apresentando propriedades distintas quando comparados a outros materiais (IIJIMA, 1991). Essas propriedades únicas estão relacionadas ao seu pequeno tamanho, grande área superficial, alta relação área/volume, estrutura oca, além de possibilidades de modificações de superfície com diferentes grupamentos químicos e moléculas orgânicas (PRAJAPATI *et al.*, 2019). Além disso, os CNTs apresentam elevada resistência térmica, mecânica e química (ALSHEHRI *et al.*, 2016). Em relação a sua estrutura, os CNTs podem ser classificados como de paredes simples, quando há uma única folha de grafite enrolada sobre si mesma para formar um tubo cilíndrico ou paredes múltiplas, quando diversos destes cilindros estão inseridos um dentro outro de maneira concêntrica (Figura 1) (HERBST; FERNANDES MACÊDO; ROCCO, 2004; SOUZA FILHO; FAGAN, 2007).

Figura 1 – Nanotubo de carbono CNT



Legenda: a) Folha de grafite sendo enrolado em forma de cilindro

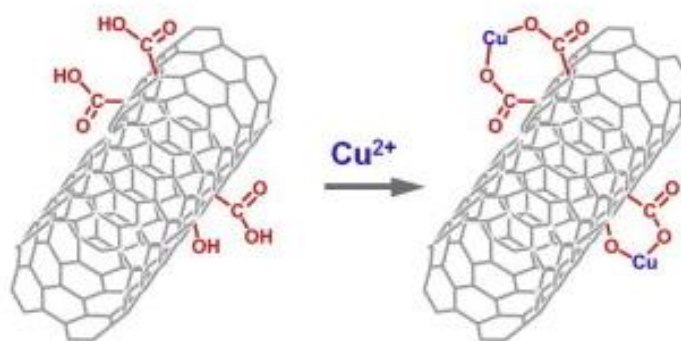
b) Nanotubos de carbono de parede simples

c) Nanotubos de carbono de paredes múltiplas.

Fonte: Adaptado de (ZHAO *et al.*, 2019).

Os CNTs podem se ligar a diversos compostos orgânicos e a metais por meio de interações não covalentes, decorrentes de adsorção física, ou por ligações químicas (LIU *et al.*, 2019). Além disso, as funcionalizações de superfície podem ser usadas para modificar a seletividade dos materiais (HUSSAIN; SARIDARA; MITRA, 2009). Para melhorar a interação dos CNTs com metais, são comumente realizadas modificações pelo uso de agentes oxidantes (como HNO_3 , H_2O_2 , NaOCl e KMnO_4) que interagem com a estrutura dos nanotubos promovendo abertura das extremidades das folhas de grafeno e levando à formação de fraturas ou defeitos na estrutura tubular (DAI; HE; LI, 2003). O processo de oxidação promove a inclusão de grupos funcionais como $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ ou $\text{C}=\text{O}$ na superfície dos CNTs que, além de facilitarem a sorção de metais (Figura 2), também promovem aumento da carga superficial, melhorando a dispersão dos nanotubos em solventes (LI *et al.*, 2002; ZHAO *et al.*, 1997).

Figura 2 - Exemplo da adsorção de íons metálicos pelos nanotubos de carbono.



Fonte: adaptado de (SITKO; ZAWISZA; MALICKA, 2012).

O uso de CNTs como sorventes em técnicas de SPE tem chamado a atenção de muitos pesquisadores, principalmente a partir de 2001 quando Yang e Long fizeram o primeiro relato que estes materiais apresentaram uma maior eficiência, em relação ao carvão ativado, para a remoção de dioxinas (LONG; YANG, 2001). Desde então os CNTs têm demonstrado um grande potencial para a remoção de vários tipos de contaminantes orgânicos e inorgânicos, incluindo o 1,2- diclorobenzeno (PENG *et al.*, 2003), trihalometanos (LU; CHUNG; CHANG, 2005), microcistinas (YAN *et al.*, 2006), flúor (LI *et al.*, 2001), chumbo (LI *et al.*, 2002), níquel (CHEN; WANG, 2006) e arsênio (PENG *et al.*, 2005) de amostras de água.

Nos últimos anos, no entanto, é notada uma tendência de aplicação dos CNTs modificados em amostras mais complexas, como as biológicas (BARBOSA *et al.*, 2016) e alimentares (CAMPOS DO LAGO *et al.*, 2020). O uso desses materiais visa a minimização de etapas prévias, diminuindo a manipulação da amostra pelos analistas (minimizando perdas e contaminações e aumentando a frequência analítica). Contudo, a aplicação dos CNTs em amostras ricas em proteínas pode ser limitada pela adsorção indesejada de macromoléculas em sua superfície. Assim, o conceito CNTs de acesso restrito foi desenvolvido e vem sendo aplicado para diferentes análises.

2.2 MATERIAIS DE ACESSO RESTRITO

Dentre as operações analíticas, a etapa de preparo da amostra é a mais crítica, pois é nela que se cometem mais erros e que se gasta mais tempo, além de ser a que apresenta o maior

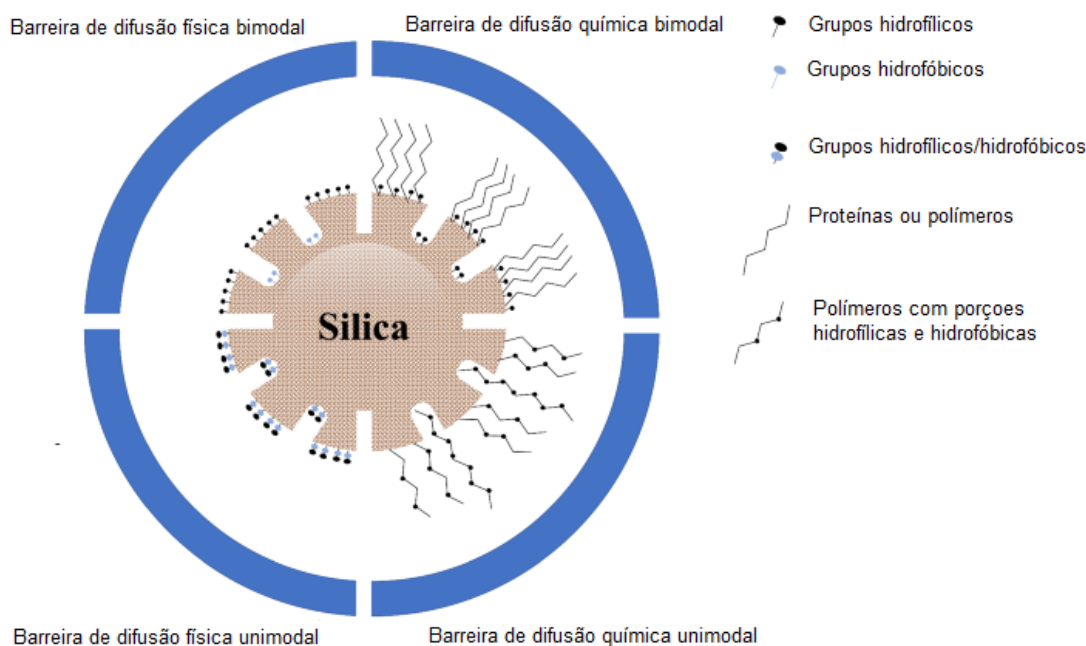
custo (SAFARIKOVA; SAFARIK, 1999). Para a determinação de analitos inorgânicos deve-se levar em consideração que procedimentos severos de mineralização são comumente realizados, havendo a necessidade de uso de ácidos concentrados, altas temperaturas e altas pressões, o que proporciona mais riscos ao analista.

De forma geral, os procedimentos para o preparo das amostras devem ser rápidos e convenientes, minimizando perdas do analito, custos e riscos (DE LIMA; CASSIANO; CASS, 2006). Para obter tais características, técnicas diversas, incluindo o uso de materiais de acesso restrito (RAM, do inglês *restricted access materials*) em técnicas de extração em fase sólida, vem sendo desenvolvidas e utilizadas.

O primeiro RAM foi proposto em 1985 por Hagestam e Pinkerton, com a finalidade inicial de permitir a injeção direta de fluidos biológicos em sistemas cromatográficos (HAGESTAM; PINKERTON, 1985). Com o uso de colunas extratoras preenchidas com RAM, as amostras são injetadas diretamente no sistema e as macromoléculas são eluídas e descartadas com a fase móvel de limpeza, evitando o acúmulo de proteínas (CHICO *et al.*, 2008), mas permitindo a retenção dos analitos por interações hidrofóbicas ou eletrostáticas com o material. Os RAMs combinam os princípios da cromatografia de exclusão e da cromatografia em fase reversa, uma vez que a superfície hidrofílica impede a adsorção das macromoléculas presentes na matriz, e as propriedades hidrofóbicas dos poros são responsáveis pela retenção das moléculas de baixo peso molecular (BOOS; GRIMM, 1999).

Os mecanismos de exclusão podem ocorrer por processos físicos, devido à uma barreira criada pelo menor diâmetro dos poros; por processos químicos, a partir da formação de uma camada externa hidrofílica que impede o acúmulo de proteínas por meio de repulsão eletrostática; ou ainda pela combinação de ambos os processos (KITAHARA *et al.*, 2010). A Figura 3 apresenta exemplos de ambos os casos: impedimento físico e impedimento químico.

Figura 3 - Esquema de um material de acesso restrito com mecanismo de exclusão por barreiras físicas e químicas.



Fonte: traduzido de (BADAWY *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, pesquisas destinadas à modificação química da superfície dos adsorventes tradicionais têm sido desenvolvidas com intuito da obtenção de RAMs. Pode-se destacar, como uma estratégia bem-sucedida, a formação de uma capa de BSA em torno de partículas de sílica, como descrito por Svensson e Arnebrant (2010). Além disso, Figueiredo e colaboradores desenvolveram em 2013 polímeros de impressão molecular revestidos com BSA e em 2016 CNTs funcionalizados com uma camada externa de BSA (BARBOSA *et al.*, 2016). Desde então esse material vem apresentando taxas de exclusão de proteínas próximas a 100% (CRUZ *et al.*, 2020; DE FARIA *et al.*, 2017a; DE LIMA *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2017) e potencialidade para a análise direta de compostos presentes em plasma humano (CRUZ *et al.*, 2020), leite (DE FARIA *et al.*, 2017b) e carne (DE LIMA *et al.*, 2016), sem a necessidade de etapas prévias de preparo de amostras para remoção de proteínas.

Ainda que num primeiro momento, o emprego dos RAMs tenha sido dedicado a extrações de compostos orgânicos, em 2014 esses materiais foram avaliados quanto à sua performance na extração de analitos inorgânicos como Pb^{2+} e Cd^{2+} em fluidos biológicos

(BARBOSA *et al.*, 2015, 2016). Os resultados mostraram alta viabilidade dos RAMs para essas análises.

Por fim, vale ressaltar que além do emprego em técnicas cromatográficas *online*, os RAMs podem ser utilizados em outras técnicas de preparo de amostras, como a extração em fase sólida (DU *et al.*, 2014), microextração por sorbente empacotado (CRUZ *et al.*, 2020), pré-concentração *online* em análise de injeção de fluxo (FRUGERI *et al.*, 2020) e extração em fase sólida dispersiva (CAMPOS DO LAGO *et al.*, 2020).

2.3 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA

As diversas técnicas de pré-tratamento de amostras têm por finalidade a extração do(s) analito(s) de uma matriz e a eliminação de substâncias que interferem na análise. Esta etapa é comumente realizada de forma manual e é decisiva para assegurar parâmetros como detectabilidade, precisão e a exatidão do método desenvolvido. Estudos têm priorizado procedimentos de preparos rápidos, com poucas etapas, capazes de produzir recuperações quantitativas e reprodutivas do analito e, de preferência, com possibilidades de automação (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

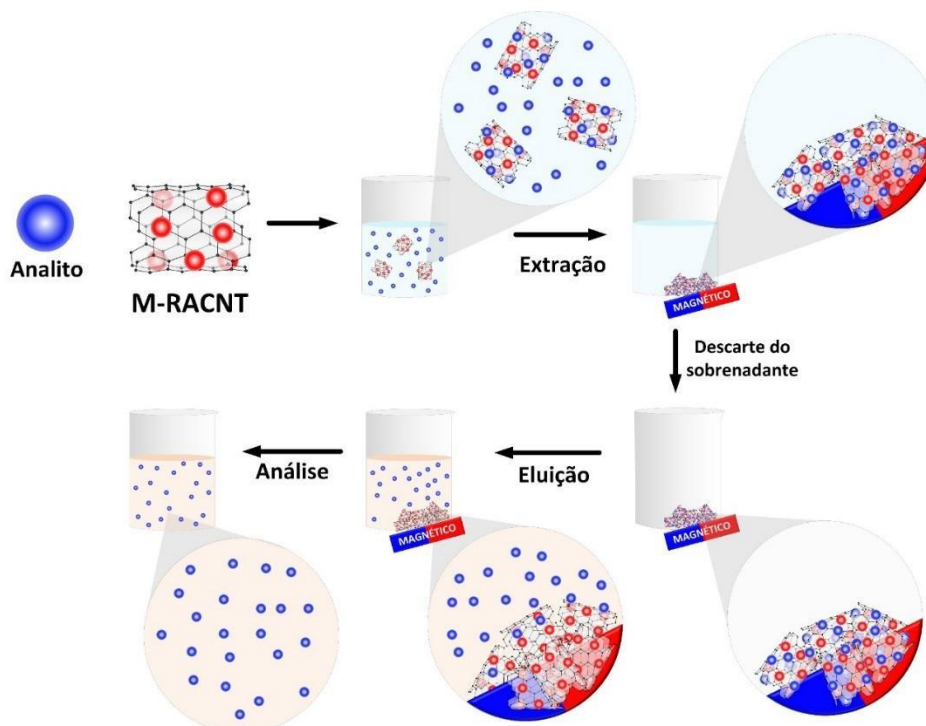
As técnicas mais relatadas para extração de resíduos e de contaminantes em amostras de alimentos são a SPE e a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid liquid extraction*). Esses procedimentos têm sido aplicados para diferentes tipos de amostras, incluindo os alimentos (LEHOTAY *et al.*, 2010; MARAZUELA; BOGIALLI, 2009). Técnicas provenientes da SPE clássica, como microextração em fase sólida capilar (JARDIM *et al.*, 2014), SPE magnética (ZHOU *et al.*, 2020), SPE utilizando polímeros de impressão molecular (HE *et al.*, 2015) e d-SPE (LV *et al.*, 2015) também foram relatadas para a determinação de analitos em amostras alimentares.

Dentre as técnicas citadas pode-se destacar a d-SPE, que foi proposta por Anastassiades e colaboradores, 2003 (ANASTASSIADES *et al.*, 2019), com objetivo de superar limitações de práticas dos métodos de multiresíduos de extração para época introduziu novo procedimento de preparo de amostra,, esta técnica envolve a agitação de uma amostra líquida com um sorvente sólido, seguida da separação do sorvente por centrifugação. Uma alíquota da amostra pode ser

separada para a análise e/ou pode ser realizada uma etapa de eluição dos analitos extraídos utilizando um solvente adequado. No caso da eluição, o sorvente é novamente separado por centrifugação e uma alíquota do sobrenadante é analisada (CABRERA *et al.*, 2012). Quando comparada com a SPE tradicional, a d-SPE traz uma série de vantagens: maior superfície de contato entre o sorvente disperso e os analitos, aumentando a interação entre eles; uso de pequenas quantidades de sorventes e solventes, levando a um menor custo; maior rapidez, uma vez que não há necessidade de etapas prévias de condicionamento do sorvente; simplicidade e versatilidade no desenvolvimento de novos métodos (CABRERA *et al.*, 2012; XIONG; CHENG; YANG, 2015).

Dunnill e colaboradores, 1973.(P. J. ROBINSON, P. DUNNILL, 1973) utilizaram pela primeira vez sorventes magnéticos na técnica de d-SPE trazendo vantagens para o método. Na d-SPE magnética (Figura 4), a separação do sorvente é realizada utilizando apenas um ímã, deixando o procedimento mais simples e mais rápido principalmente comparado com protocolos convencionais de preparo de amostra. O uso de nanopartículas magnéticas têm despertado o interesse da comunidade acadêmica, uma vez que esses materiais, de natureza superparamagnéticas, apresentam características favoráveis, como alta dispersibilidade, elevada proporção entre a superfície e o volume, capacidade de adsorção, possibilidade de serem reutilizadas e recicladas, simplicidade de produção em grande escala e possibilidade de modificações de superfície (FARAJI; SHIRANI; RASHIDI-NODEH, 2021).

Figura 4 - Representação esquemática da extração em fase sólida magnética



Fonte: do autor.

Assim como a SPE convencional, d-SPE magnética também pode ser aplicada em diversos tipos de amostras para a extração de diferentes classes de analito. CAMPOS DO LAGO e colaboradores. (2020), por exemplo, utilizaram pela primeira vez M-RACNTs na técnica de d-SPE magnética para a extração de analitos orgânicos em amostras de leite. Os autores relataram um preparo de amostras simples e eficiente e um método analítico com limites de quantificação adequados (CAMPOS DO LAGO *et al.*, 2020), demonstrando a viabilidade da técnica para o controle de qualidade das amostras de leite.

2.4 CHUMBO E CÁDMIO EM ALIMENTOS

Os metais tóxicos (Cd, Pb, As, Cu, Cr, Ni, entre outros) são encontrados no planeta como constituintes naturais de solos e rochas, bem como podem estar presentes em muitos produtos e utensílios que são utilizados no cotidiano. Dessa forma, várias são as maneiras que os metais tóxicos podem contaminar o solo, a água e a biota, dentre elas se destacam a deposição atmosférica, os resíduos agropecuários, os fertilizantes e os corretivos, os

agroquímicos, os lodos de esgoto, a água de irrigação, os compostos de lixo urbano e os resíduos urbanos, industriais e de mineração (DUARTE; PASQUAL, 2000; KUNO *et al.*, 1999; SRIVASTAVA; GUPTA, 1994; SWARUP *et al.*, 2005).

As condições ambientais associadas às práticas tecnológicas e ao uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura e na agropecuária tem provocado o aparecimento de elementos químicos tóxicos nos alimentos (GONÇALVES; MESQUITA; GONÇALVES, 2008). As pastagens frequentemente são contaminadas devido à deposição atmosférica, proveniente de fundição, de indústrias diversas, e do ambiente urbano (HAMMOND; ARONSON, 1964). Chaney et al. (1996) relataram que plantas podem transferir contaminantes do solo para os níveis mais altos da cadeia trófica (CHANEY; OLIVER, 1996). Tal afirmação é corroborada por outros trabalhos que demonstraram que plantas cultivadas com altas concentrações de metais pesados podem oferecer risco à saúde humana (MARTINS; BATAGLIA, 2003; RANGEL *et al.*, 2006). Além disso, efluentes contaminados advindos de diferentes processos industriais ou pequenas atividades urbanas também podem ser responsáveis pela contaminação da água fornecida a animais (ABDEL-RAHMAN, 2021).

Metais tóxicos, como o chumbo e o cádmio, quando absorvidos não são completamente eliminados e provocam alterações metabólicas nos indivíduos expostos, causando prejuízos que podem ser irreversíveis (ABDEL-RAHMAN, 2021). A variação na ingestão de contaminantes através de alimentos é resultado de diferentes hábitos alimentares e de vários tipos de exposição ambiental.

O chumbo é encontrado como poluente ambiental pela emissão industrial, principalmente por fábricas de baterias e incineradores; além de poder ser ingerido a partir de alimentos contaminados (OBENG-GYASI, 2019). Mesmo em baixas concentrações, o chumbo pode comprometer o sistema nervoso, o sangue e os rins (NASCIMENTO; IZÁRIO FILHO; BALTAZAR, 2006). Ainda em 400 a.C., Hipócrates descreveu uma doença que chamou de saturnismo, com sintomas que iam de cólica a paralisia, que foi correlacionada com homens que trabalhavam com chumbo (REILLY, 1991). No século XVI, Georgius Agricola, em *De Re Metallica*, descreveu o chumbo como um metal “mortal e nocivo”. Já em 1972, o *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA) estabeleceu a ingestão semanal tolerável provisória para chumbo em 50 µg/kg peso corpóreo/semana para adultos. Em 1999, principalmente devido

a preocupação com crianças e bebês, o JECFA re-avaliou o risco do chumbo e reduziu a ingestão tolerável para 25 µg/kg peso corpóreo/semana, (WHO, 1948) sendo esse valor mantido até hoje.

O cádmio é um metal conhecido por ser extremamente tóxico uma vez que apresenta lenta excreção e longa meia-vida (décadas), sendo principalmente acumulado nos rins (COTTON, F. A.; WILKINSON, 1999). Pode ser encontrado em alimentos, água e ar, sendo a maior exposição humana ao cádmio decorrente do tabagismo e do consumo de alimentos contaminados por fertilizantes, esgoto, lama, adubos e deposição atmosférica (DAVIS *et al.*, 2006). A ingestão de cádmio pode levar a danos renais, distúrbios metabólicos do cálcio, fibrose e edema pulmonar, hipertensão arterial sistêmica, diminuição da produção de anticorpos, anemia e diminuição da testosterona (FERNANDES; MAINIER, 2014; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). Mais recentemente, alguns autores relatam um possível efeito carcinogênico e trazem informações de que a ação do cádmio no organismo ocorre devido à sua combinação com grupos tióis (SH) de proteínas, o que provoca desarranjos no metabolismo (FERREIRA *et al.*, 2007).

Órgãos reguladores, como ministério da saúde através da “Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº42, de 29 de agosto de 2013”, dispõem sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos e adota os seguintes limites para chumbo e cádmio sendo de 0,02 mg kg⁻¹ e 0,05 mg kg⁻¹, respectivamente. Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos dedicados à análise de metais tem ganhado destaque com o crescente interesse sobre o acúmulo e a toxicidade dos metais. Estes elementos estão presentes em bebidas e alimentos em baixas concentrações, conseqüentemente, suas determinações neste tipo de matriz requerem o uso de técnicas analíticas de alta detectabilidade. Além disso, a etapa de preparo de amostras deve ser cuidadosamente planejada para que não ocorra perda do analito durante os processos.

2.5 TÉCNICAS DE ANÁLISES E LIMITES DE METAIS EM LEITE

O consumo de leite é importante e indicado para todas as idades (salvo em caso de restrição ou condições específicas), por ser importante fonte de energia e também a melhor

fonte de cálcio. O leite apresenta, em média, 88 % de água, 3,22 % de proteínas, 3,25% de gordura, e 4,5% de carboidrato (JENKINS; MCGUIRE, 2006). Além de apresentar uma variedade de nutrientes não energéticos, mas essenciais para o organismo humano, tais como cálcio, fósforo, potássio e vitaminas (WALSTRA *et al.*, 2005). Os elementos ainda podem se apresentar na forma de sais ligados dentro de micelas de caseína, esse é o caso do cálcio (67% do total está na forma de sal), magnésio (35%) e fosfato (44%). Pequenas concentrações de cobre, ferro, manganês, potássio e sódio também são encontradas nesse alimento (ROCHA, 2015).

Para o atendimento dos requisitos na qualidade e segurança da produção do leite, uma fiscalização eficiente se faz necessária. No Brasil, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal (PNCRC/Animal) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) monitora os níveis de metais tóxicos, tais como Pb^{2+} e Cd^{2+} , e diversos outros resíduos e contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes nesta matriz. O limite máximo permitido (LMP) para Pb^{2+} e Cd^{2+} em leite cru é, respectivamente, 20 $\mu g L^{-1}$ e 50 $\mu g L^{-1}$. Este valor, adotado pelo Brasil, é estabelecido pelo regulamento (CE) nº 1881/2006 e pelo CODEX STAN 193-1995, 2010. A determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} em baixas concentrações requer métodos analíticos com boa detectabilidade. Quando a técnica analítica disponível para análise não apresenta detectabilidade adequada, são empregados procedimentos de pré-concentração. (BRASIL - MAPA, 2015).

Na literatura são encontradas técnicas para determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} como espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*) (ELIK; DEMIRBAŞ; ALTUNAY, 2022), espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GFAAS, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*) (RIBEIRO MENEZES *et al.*, 2021), espectrometria de emissão atômica com plasma de indutivamente acoplado (ICP-OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) (MULLAPUDI *et al.*, 2019), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*) (ZÁRATE-QUIÑONES *et al.*, 2021) e espectrometria de fluorescência de raios-X (ALMEIDA *et al.*, 2021). Métodos colorimétricos, usando 1,5-difeniltiocarbazona (ditizona) como reagente

colorimétrico, também são descritos para determinação de Pb^{2+} , embora sejam menos sensíveis e mais morosos (BARBOSA *et al.*, 2015; GONÇALVES; MESQUITA; GONÇALVES, 2008).

Mesmo com a variedade de metodologias para a determinação de metais em leite, a AAS é a mais utilizada devido à sua sensibilidade e relativo baixo custo. Normalmente, o preparo de amostras para a AAS é feito por métodos de digestão (decomposição de toda a matéria orgânica e liberação de metais para a análise). A Tabela 1 mostra alguns exemplos de técnicas utilizadas para a quantificação de metais em leite e derivados

Tabela 1 - Técnica de determinação de metais em amostras de leite e derivados.

Amostra	Analito(s)	Método	Resultados	Referência
Leite	Pb e Cd	Eletrodo modificado com carbono nanoporoso	O método desenvolvido foi eficiente e apresentou figuras de mérito adequadas, podendo ser utilizado para análises de formulações infantis. O método apresentou limites de detecção de 0,1 (Pb) e 1,67 (Cd) $\mu\text{g L}^{-1}$	(CHEN <i>et al.</i> , 2023)
Leite de vaca	Al, Cr, Fe, Cu, Zn, As	ICP-MS	Os autores investigaram a relação entre a concentração de metais no soro e no leite dos animais com a exposição a poluentes ambientais. Duas fazendas, uma mais próxima de área industrial que a outra foram, estudadas. Uma correlação positiva entre Zn no leite e no soro foi encontrada para a fazenda mais próxima da área industrial.	(MONTEVERDE <i>et al.</i> , 2022)
Leite de vaca e queijo	Ni, Cr, Cu, Zn, Pb and As	ICP-OES	Os autores concluíram que a determinação dos metais nas amostras biológicas pode ser uma importante ferramenta para monitorar a exposição à poluição ambiental. Os resultados das análises de leite mostraram uma média de Pb acima dos níveis permitidos pelo Codex e pela Comissão Europeia. Queijos também apresentaram concentrações de Pb e As. Dessa forma, os autores concluíram que os leites processados em regiões irrigadas com águas residuais estavam contaminados com metais pesados.	(CASTRO-GONZÁLEZ <i>et al.</i> , 2018)
Leite cru	Pb	GF-AAS	As amostras de leite foram preparadas usando Triton X-100 e ácido nítrico para a análise direta em GF-ASS. Foi verificado que essa metodologia era	(DE OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2017)

			adequada e apresentava boas figuras de mérito.	
			Os autores verificaram que uma das amostras analisadas apresentava contaminação por Pb.	
			Os autores validaram um método multi-analitos e os resultados foram comparados com trabalhos da literatura.	
Leite de ovelha e leite de cabra	Pb, Cd, Hg, As, U, Cr, Sr, Be, Ni, Al, Sn, Te, Fe, Cu, Mn, Zn, V, Se, Co e Mo	ICP-MS	O método estatístico de análise de componentes principais foi realizado para verificar as diferenças quanto ao conteúdo dos metais analisados. O local de amostragem foi uma variável bastante significativa; enquanto a diferença de amostra (cabra/ovelha) e a época de produção pareceram ter efeitos mínimos.	(MIEDICO <i>et al.</i> , 2016)
			Dentre 78 amostras, 2 apresentaram concentrações de Pb além do permitido. Dessa forma, os autores concluíram que não há evidências de problemas para o consumo de leite de ovelha e de cabra.	
Leite, iogurte, queijo	Pb, Cd, Cu, Se, Zn	Voltametria	A maior parte das 250 amostras analisadas estavam de acordo com o que é estabelecido por legislações.	(SHAHBAZI; AHMADI; FAKHARI, 2016)
			Os resultados demonstraram que a presença de metais nas amostras foi diferente de acordo com a estação da amostragem, sendo encontradas maiores concentrações no inverno.	
Leite cru de vaca	As, Cd, Cr, Ni, Pb, e Se.	ICP-OES	Os autores tiveram como objetivo verificar a correlação entre a presença de metais na água oferecida para os gados e o leite produzido pelas vacas.	(PÉREZ-CARRERA; ARELLANO; FERNÁNDEZ-CIRELLI, 2016)
			Uma correlação positiva foi encontrada para As e foi verificada uma maior concentração de metais nas amostras de leite provenientes de fazendas que usam poços profundos.	
Leite	Cd, Co, Pb, Cu, Ni	AAS	480 amostras de leite foram analisadas e as concentrações de Cu e Pb de algumas regiões excederam os limites estabelecidos pelo Codex Alimentarius. Assim, os autores concluíram que o consumo de leite das áreas avaliadas pode trazer preocupações para os consumidores.	(ISMAIL <i>et al.</i> , 2015)
Amostras de leite cru	Cd, Pb	FAAS	Os autores verificaram que a concentração de Cd e Pb em leite de	(NAJARNEZHAD <i>et al.</i> , 2015)

de búfala, de vaca e de ovelha			búfala foram significativamente maiores do que no leite de vaca e ovelha. Também foi verificado que a concentração dos metais aumentava de acordo com o aumento de idade dos animais.	
Leite fermentado e derivados	Cd, Pb, Cu	Potenciometria	Somente duas amostras de produtos lácteos fermentados tiveram teor de Cd e Pb superior ao limite.	(SUTUROVIĆ <i>et al.</i> , 2014)

Nota: AAS: espectrometria de absorção atômica; FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; GF-AAS: espectrometria de absorção atômica com forno de grafite; ICP-MS: espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado; ICP-OES: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

Fonte: Autor

2.6 ESTUDO DE ADSORÇÃO

A adsorção é um processo de transferência de massa que leva em consideração a habilidade de certos sólidos (adsorventes) em concentrar, na sua superfície, analitos contidos em soluções aquosas ou em gases (adsorbatos), resultando em uma separação que envolve diferentes forças de interação (ATKINS; PAULA, 2008). Esse processo pode ser distinguido entre adsorção física (fisissorção) e química (quimissorção) (ATKINS; PAULA, 2008).

Na fisissorção, as interações envolvidas são as forças dispersas de London, não havendo transferência nem compartilhamento de elétrons. Essas interações são fracas e de longo alcance, sendo reversíveis. Além disso, no mecanismo de fisissorção geralmente observa-se a deposição de mais de uma camada de adsorbato sobre a superfície do adsorvente (ATKINS; PAULA, 2008). Já na quimissorção, ocorrem ligações covalentes entre o adsorbato e o adsorvente, em um processo irreversível no qual é formada apenas uma camada sobre a superfície do sólido (ATKINS; PAULA, 2008).

Para a compreensão do processo adsorptivo, dois princípios podem ser utilizados: a cinética e a isoterma de adsorção. A primeira refere-se ao estudo de mecanismos de velocidade de adsorção e dois modelos de ajustes de dados se destacam: cinética de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem (KUMAR; SIVANESAN, 2006). Já a segunda, representa as relações de equilíbrio entre o adsorvente e o adsorbato, que geralmente são descritas pela razão entre a quantidade de soluto adsorvido versus a quantidade remanescente na solução em

equilíbrio (BEHNAMFARD; SALARIRAD, 2009). Além disso, a capacidade adsortiva (q_e , mg g^{-1}) é um outro dado importante que pode ser obtido por meio dos experimentos de adsorção e é calculado através da equação 1. Em que C_0 (mg L^{-1}) é a concentração inicial do adsorbato, C_e (mg L^{-1}), concentração de equilíbrio do adsorbato, V (L) é o volume experimental da solução do adsorbato e m (g), a massa de adsorvente utilizado.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (\text{Equação 1})$$

2.6.1 Modelo cinético de pseudo-primeira ordem

No modelo de pseudo-primeira ordem verifica-se uma relação matemática direta entre a variação da velocidade de remoção do adsorbato com o tempo e a diferença na concentração de saturação e o número de sítios ativos (KUMAR, 2006). O modelo de pseudo-primeira ordem é descrito pela Equação 2, em que k_1 (min^{-1}) é a constante de velocidade para a equação de primeira ordem, q_t e q_e (mg g^{-1}) são a quantidade de adsorbato adsorvido por unidade de massa de adsorvente em um tempo (t) e no equilíbrio, respectivamente.

$$q_t = q_e[1 - \exp(-k_1 t)] \quad (\text{Equação 2})$$

2.6.2 Modelo cinético de pseudo-segunda ordem

O modelo de pseudo-segunda ordem descreve uma adsorção dependente da quantidade de sítios de ligação contidos na superfície do material (HO, 2006). A relação matemática é descrita pela Equação 3, na qual k_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) é a constante de velocidade e q_t e q_e (mg g^{-1}) são a quantidade de adsorbato adsorvido por unidade de massa de adsorvente em um tempo (t) e no equilíbrio, respectivamente.

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + q_e t k_2} \quad (\text{Equação 3})$$

2.6.3 Outros modelos de cinética

Outros dois modelos de cinética apresentam destaque na literatura: o ajuste de ordem fracionária (modelo de Avrami) e o de quimissorção (modelo de Elovich). O primeiro considera que vários mecanismos ocorrem durante o processo de adsorção, modificando-se a medida em que a interação entre adsorvente e adsorbato ocorre (WANG; GUO, 2020). Já o segundo, diz respeito à formação de interações covalentes entre o analito e o adsorvente (WANG; GUO, 2020). Ambos os modelos sugerem que a superfície do sólido extrator é heterogênea e são descritos, respectivamente, pelas equações 4 e 5 a seguir. Nas quais k_{AV} (min^{-1}) e n_{AV} são, respectivamente, a constante e o expoente de Avrami; α ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$) é a velocidade inicial de adsorção e β (g mg^{-1}) é a constante de Elovich.

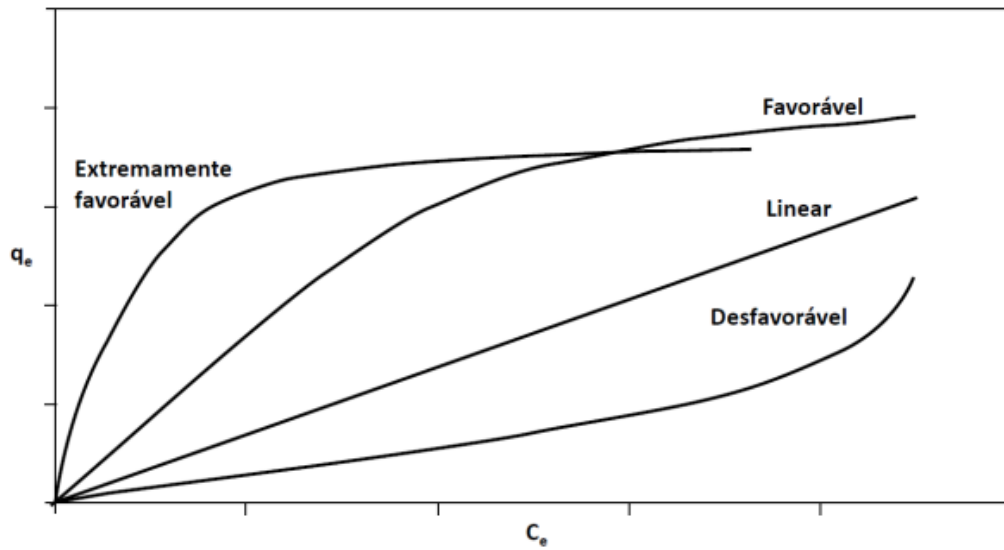
$$qt = qe \{1 - \exp[-(k_{AV}t)^{n_{AV}}]\} \quad (\text{Equação 4})$$

$$qt = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln(t) \quad (\text{Equação 5})$$

2.6.4 Classificação das isotermas de adsorção

A isoterma pode ser definida como uma curva que descreve o fenômeno de adsorção a pH e temperatura constantes (BEHNAMFARD; SALARIRAD, 2009). O mecanismo de adsorção pode ser inferido de acordo com a forma da curva obtida (Figura 5), que representa a relação de equilíbrio entre as concentrações na fase líquida e as concentrações nas partículas adsorventes (NASCIMENTO *et al.*, 2014). A forma das isotermas de adsorção são dependentes da natureza do adsorbato. Na isoterma linear, a quantidade adsorvida é proporcional à concentração do fluido. Isotermas convexas são favoráveis, pois grandes quantidades adsorvidas podem ser obtidas com baixas concentrações de soluto, sendo classificadas como favoráveis ou extremamente favoráveis de acordo com a forma da isoterma de adsorção (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

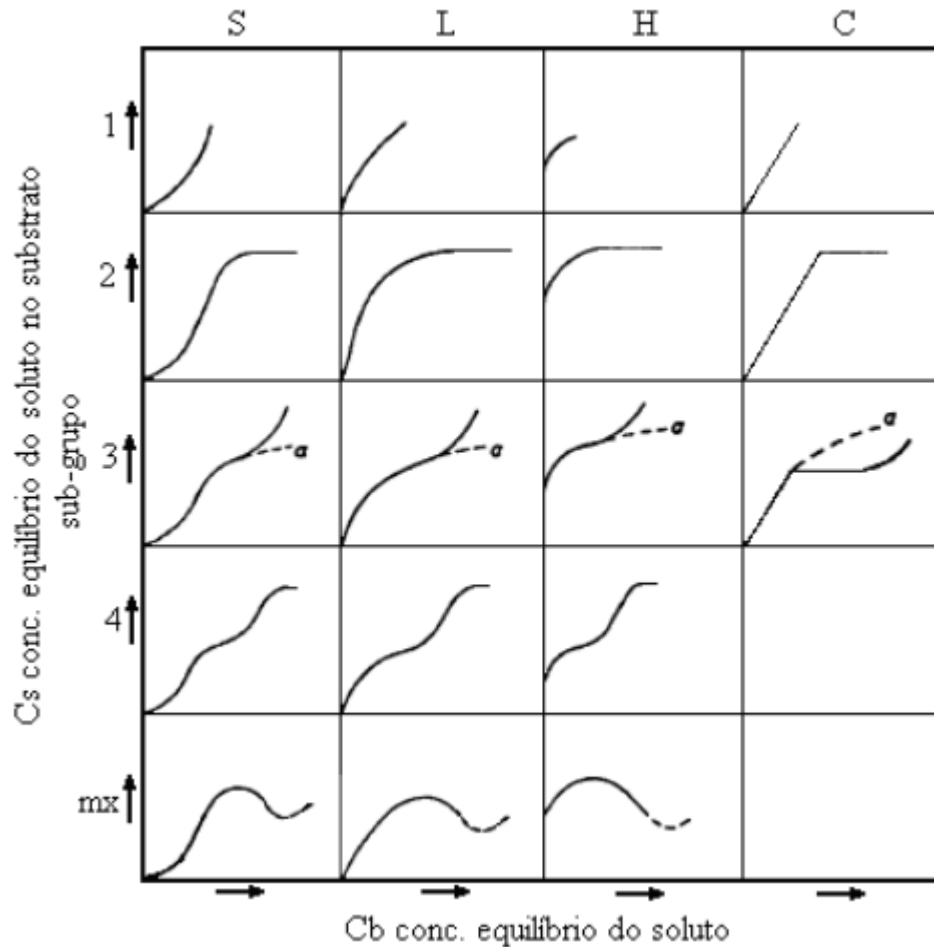
Figura 5 - Formas comuns de uma isoterma de adsorção.



Fonte: (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Uma outra classificação do perfil das isotermas foi proposta por Giles (1973), na qual as isotermas são classificadas em grupos de acordo com suas inclinações iniciais e curvaturas, e em subgrupos de acordo com seu comportamento frente a altas concentrações de adsorbato (Figura 6). Os grupos de classificação são descritos como: linear (C), Langmuir (L), Freundlich (F), alta afinidade (H - *High Affinity*) e sigmoide (S) e subgrupos (1, 2, 3 e 4). Já os subgrupos são: 1 - não apresenta platôs; 2 - apresenta um único platô; 3 - tem um ponto de inflexão em razão da mudança de forma; 4 - apresentam dois platôs e um ponto de máximo (F MARSH H., 2006; GILES *et al.*, 1960).

Figura 6 - Classificação das isotermas e subgrupos conforme Giles.

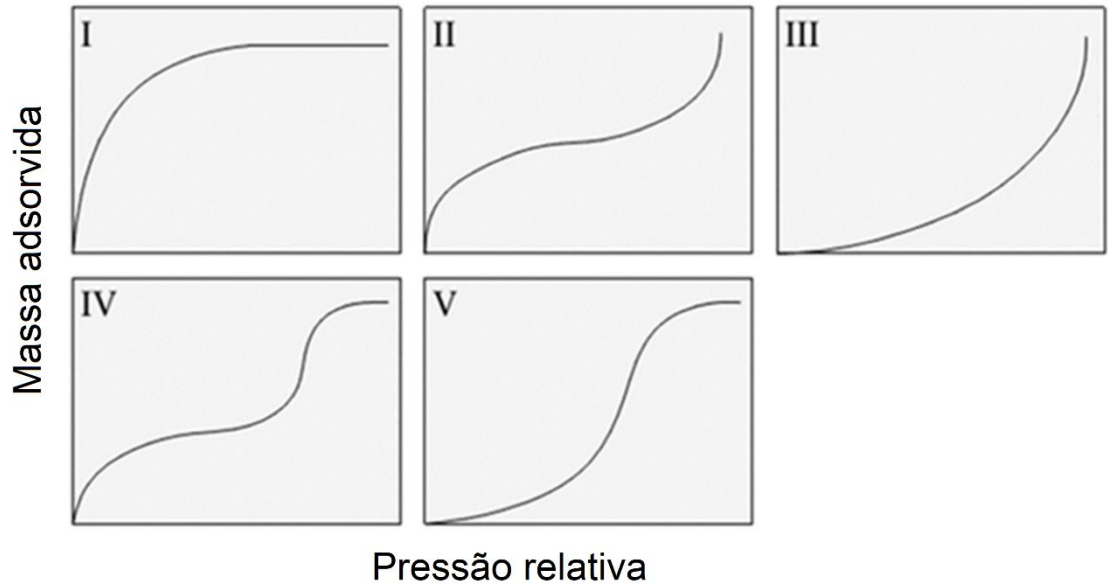


Fonte: Adaptado de (GILES *et al.*, 1960).

Por fim, Sing (1985) classificou as isotermas em 5 grupos, nomeados de I a V (Figura 7). Esta classificação é a aceita pela IUPAC e foi inicialmente desenvolvida com base nas isotermas obtidas utilizando um sólido adsorvente e um gás qualquer como adsorvato (SING, 1985). Dessa forma, as curvas de adsorção são obtidas a partir de um gráfico de moléculas adsorvidas em relação à variação da pressão. A quantidade de gás adsorvido é expressa como seu volume nas condições padrão de temperatura e pressão (0 °C e 1 atm); enquanto a pressão é expressa de forma relativa (pressão do gás/pressão de vapor do adsorbato) com medidas feitas em temperaturas nas quais o gás utilizado encontra-se em estado líquido. Mesmo sendo uma classificação desenvolvida para gases, alguns autores relatam o uso desses modelos para

descrever a adsorção de analitos provenientes de amostras líquidas em materiais extratores (BALI; TLILI, 2019; SERESHTI et al., 2020).

Figura 7 - Tipos de isotermas de acordo com a classificação da IUPAC.



Fonte: Adaptado de (GARBALIŃSKA; BOCHENEK; STASIAK, 2021).

Uma breve explicação dos tipos de isotermas é dada a seguir (F MARSH H., 2006):

- a) **Tipo I:** Está relacionada ao aumento da quantidade de gás adsorvido com o aumento da pressão até a observação de um platô. É típica de sólidos microporosos e apresenta uma adsorção em monocamada.
- b) **Tipo II:** É característica de adsorventes não porosos ou macroporosos. Caracteriza-se pelo aumento da quantidade de gás adsorvido com o aumento da pressão, seguido de um estágio de equilíbrio e, após, um novo aumento. Nesse tipo de isoterma, ocorre uma adsorção em multicamadas.
- c) **Tipo III:** Tem origem em condições nas quais as moléculas de gás têm maior afinidade umas pelas outras do que pela superfície do adsorvente.
- d) **Tipo IV:** A presença de dois platôs é resultado da formação de duas camadas sucessivas de adsorção na superfície do sólido. Nesse tipo, as interações entre as moléculas e a superfície são mais fortes que as interações entre as moléculas do gás.

Ocorre em adsorventes mesoporosos e quanto maior a inclinação, mais homogênea é a distribuição de tamanho dos poros.

- e) **Tipo V:** Ocorre em adsorventes mesoporosos com formação de multicamadas desde baixas concentrações. Além disso, está relacionada à isoterma do tipo III em que a interação adsorvente-adsorbato é fraca.

2.6.5 Modelos de isotermas de adsorção

As isotermas de Langmuir e Freundlich são as mais utilizadas para caracterizar a adsorção de compostos por materiais extratores (MOZAFFARI MAJD *et al.*, 2022). Enquanto a isoterma de Langmuir assume uma adsorção homogênea, em sítios energeticamente equivalentes e em uma monocamada (FOO; HAMEED, 2010); a isoterma de Freundlich diz respeito à uma adsorção em múltiplas camadas sobre uma superfície heterogênea, na qual os sítios têm diferentes energias de ligação (MOZAFFARI MAJD *et al.*, 2022). Além dessas, a isoterma de Sips também merece ser destacada, referindo-se a um modelo intermediário entre os dois citados. Na isoterma de Sips, a superfície do adsorvente é descrita como heterogênea e forma de adsorção varia de acordo com a concentração do adsorbato: em baixas concentrações se aproxima do modelo de Freundlich e em altas, do modelo de Langmuir (FOO; HAMEED, 2010).

Outros modelos são descritos na literatura: Redlich-Petersen, Khan e Toth, que são também são intermediários entre Langmuir e Freundlich (MOZAFFARI MAJD *et al.*, 2022). Porém, apresentam certas peculiaridades: por exemplo, na isoterma de Toth os sítios menos energéticos são ocupados primeiro (FOO; HAMEED, 2010) e no modelo de Redlich-Petersen os dados são adequados tanto para superfícies homogêneas quanto para heterogêneas (WU *et al.*, 2010).

De posse dos dados de adsorção dos íons metálicos pelos materiais extratores, os próximos passos devem ser referentes a otimização do método analítico.

2.7 MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO E PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

Em um sistema analítico vários fatores estão relacionados com a resposta final e os estudos de otimização são dedicados para a obtenção das melhores condições de análise. A otimização é mais comumente realizada de forma univariada, ou seja, avaliando um fator por vez (DO SANTOS; SANTOS; FERREIRA, 2003). No entanto, a otimização multivariada pode ser realizada e apresenta vantagens como: permitir o estudo de mais de um fator simultaneamente; obter informações a respeito das interações entre os fatores; realizar um menor número de experimentos, levando a um menor tempo para a execução e a um menor consumo de reagentes (FERREIRA *et al.*, 2004; VALE *et al.*, 2004).

Em geral, na otimização multivariada aplica-se primeiro um planejamento fatorial, com o intuito de realizar uma triagem e descartar os fatores que não são significativos para o sistema. Já em um segundo passo, utiliza-se de planejamentos mais complexos (como a metodologia de superfície de reposta) para se obter a função matemática entre os fatores significativos e a resposta analítica, a partir da qual é possível calcular a condição ótima (BARROS NETO, B., SCARMINO, I. S., & BRUNS, 2007; PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005). Planejamentos fatoriais em dois níveis são bastante úteis em investigações preliminares, quando o foco ainda não é a descrição rigorosa do sistema, mas sim uma avaliação preliminar dos fatores que podem afetar a resposta analítica. Dessa forma, para estudar o efeito de qualquer fator é necessário fazê-lo variar em níveis, necessitando de no mínimo dois níveis diferentes: um nível superior (+) e um nível inferior (-) (BARROS NETO, B., SCARMINO, I. S., & BRUNS, 2007). Para as combinações dos k fatores investigados em dois níveis, tem-se um planejamento composto de 2^k experimentos (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). A partir dos resultados destes planejamentos é possível inferir qual o efeito sobre o sistema quando determinado fator passa do nível inferior (-) para nível superior (+).

Em um planejamento fatorial completo, o número de ensaios (n) aumenta com o valor de k ($k=3$; $n=2^3=8$ ensaios; $k=6$; $n=2^6=64$ ensaios). Assim, quando se tem um número elevado de fatores o mais indicado é utilizar planejamentos fatoriais fracionários, onde o número de ensaio (n) é dado por 2^{k-b} , em que k é o número de fatores e b o tamanho da fração (BARROS NETO, B., SCARMINO, I. S., & BRUNS, 2007). Estes valores são válidos considerando que os efeitos das interações de ordem elevadas são pequenos e, na maioria dos casos, podem ser desconsiderados sem prejuízo de informação (FERREIRA *et al.*, 2004). Ou

seja, o planejamento fracionário permite tirar conclusões como se fosse um planejamento completo, mas com um menor número de experimentos.

Por possuírem somente dois níveis, esses planejamentos fatoriais resultam em equações de primeira ordem. Essas equações indicam apenas uma tendência do efeito que os fatores exercem sobre a resposta, sendo raro a obtenção de condições ótimas experimentais de forma precisa. A partir dos resultados podem ser realizados experimentos com a matriz de Doehlert, permitindo a seleção de combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

O planejamento de Doehlert é uma metodologia de superfície de resposta (MSR, do inglês *surface response methodology*) baseada em matrizes experimentais que apresentam pelo menos três níveis e incluem procedimentos estatísticos na modelagem matemática das respostas, permitindo explorar (modelar e deslocar) o sistema até a otimização (FERREIRA *et al.*, 2003; TEÓFILO; FERREIRA, 2006). O planejamento dos experimentos deve estimar coeficientes que proporcionam boas estimativas a todos os coeficientes, fornecendo condições de avaliar a qualidade do modelo ajustado, ou seja, de verificar se a regressão é estatisticamente significativa ou apresenta falta de ajuste.

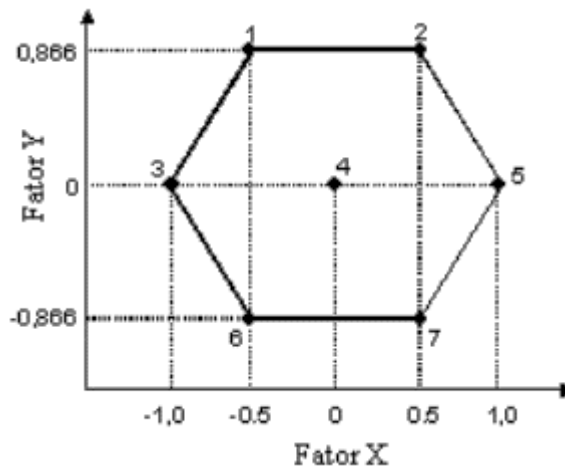
Além do exposto, ainda é possível selecionar, através de modelos matemáticos de segunda ordem, a combinação de níveis favoráveis para obter a melhor resposta. A matriz de Doehlert é uma alternativa de delinear experimentos de segunda ordem, sendo baseada em desenhos aplicados nos resultados obtidos pelo planejamento fatorial. Os níveis escolhidos para as análises vêm do diagrama de Pareto e do conhecimento prévio do sistema. A principal vantagem da matriz de Doehlert está na possibilidade de estudar os fatores de maiores impactos em diferentes níveis com um menor número de experimentos, a fim de obter maiores informações sobre o sistema.

A matriz de Doehlert para dois fatores consiste em um ponto central e seis pontos formando um hexágono regular (CAMPAÑA *et al.*, 1997) (Figura 8). O número de experimentos (n) necessário para a construção do modelo é dado por $K^2 + K + C_0$ onde K é o número de fatores e C_0 é o número de experimentos no ponto central. Cada modelo é definido levando-se em conta o número de fatores e os valores codificados da matriz experimental. A relação entre os valores codificados e os reais é dado pela Equação 6, na qual o termo C_i é o

valor codificado para o nível do fator i , X_i é o seu valor experimental, X_i^0 é o valor experimental no ponto central, ΔX_i é a distância entre o valor experimental no ponto central e o experimental no nível superior ou inferior e α é o valor limite codificado para cada fator.

$$C_i = \frac{(X_i - X_i^0)\alpha}{\Delta X_i} \quad (\text{Equação 6})$$

Figura 8 - Representação do planejamento Doehlert para dois fatores.



Fonte: adaptada de (NECHAR *et al.*, 1995).

Por fim, os valores codificados das matrizes do planejamento Doehlert para dois, três e quatro fatores podem ser visualizados na Figura 9.

Figura 9 - Representação de uma tabela mostrando a aplicação da matriz de Doehlert para dois, três e quatro fatores.

Matrizes Doehlert para dois, três e quatro fatores.

Fatores Experimentais – Matriz Doehlert									
	2 fatores		3 fatores			4 fatores			
	x_{1a}	x_{2a}	x_{1b}	x_{2b}	x_{3b}	x_{1c}	x_{2c}	x_{3c}	x_{4c}
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	1	0	0	1	0	0	0
3	0,5	0,866	0,5	0,866	0	0,5	0,866	0	0
4	-1	0	0,5	0,289	0,817	0,5	0,289	0,817	0
5	-0,5	-0,866	-1	0	0	0,5	0,289	0,204	0,791
6	0,5	-0,866	-0,5	-0,866	0	-1	0	0	0
7	-0,5	0,866	-0,5	-0,289	-0,817	-0,5	-0,866	0	0
8			0,5	-0,866	0	-0,5	-0,289	-0,817	0
9			0,5	-0,289	-0,817	-0,5	-0,289	-0,204	-0,791
10			-0,5	0,866	0	0,5	-0,866	0	0
11			0	0,577	-0,817	0,5	-0,289	-0,817	0
12			-0,5	0,289	0,817	0,5	-0,289	-0,204	-0,791
13			0	-0,577	0,817	-0,5	0,866	0	0
14						0	0,577	-0,817	0
15						0	0,577	-0,204	-0,791
16						-0,5	0,289	0,817	0
17						0	-0,577	0,817	0
18						0	0	0,613	-0,791
19						-0,5	0,289	0,204	0,791
20						0	-0,577	0,204	0,791
21						0	0	-0,613	0,791

Fonte: (FERREIRA *et al.*, 2004).

3. JUSTIFICATIVA

Metais tóxicos, como o chumbo e o cádmio, podem estar presentes em alimentos a partir de diversas fontes de contaminação. Entre elas: deposição atmosférica, irrigação com água contaminada e contato com lodos ou esgotos. Concentrações elevadas desses metais causam problemas, muitas vezes irreversíveis, à saúde do consumidor final. Dessa forma, o controle de qualidade de alimentos é extremamente necessário, principalmente quando se tem matrizes como o leite que pode ser consumido de forma cotidiana inclusive por crianças, que são mais susceptíveis à intoxicação por metais pesados. Legislações brasileiras estabelecem limites de metais que podem ser encontrados no leite e é imprescindível verificar se as empresas atendem a essas normativas.

Um preparo de amostras eficiente, simples e rápido é requerido para a determinação de analitos em amostras complexas. Assim, justifica-se a aplicação inédita de M-RACNTs, um material de fácil síntese e aplicação, para a determinação de chumbo e cádmio de amostras de leite. Utilizando esse material na técnica de d-SPE magnética há benefícios múltiplos, incluindo praticidade, alta capacidade de extração dos metais e a não necessidade de mineralização da amostra. A mineralização é conhecida por seu longo tempo de execução e sua periculosidade (uma vez que temperaturas e pressões elevadas são empregadas, além uso de grande volume de ácidos e agentes oxidantes); além disso, amostras podem ser perdidas durante esse procedimento.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho refere-se à aplicação de M-RACNTs no preparo de amostras de leite, para extração de Pb^{2+} e Cd^{2+} seguido de determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

4.2 Objetivos Específicos

- a) Sintetizar M-CNTs incorporando nanopartículas magnética de óxido de ferro aos CNTs, pelo método de co-precipitação;
- b) Recobrir M-CNTs com BSA para obtenção de M-RACNTs;
- c) Avaliar a capacidade dos M-RACNTs de extrair Pb^{2+} e Cd^{2+} ;
- d) Avaliar a capacidade dos M-RACNTs para excluir proteínas;
- e) Caracterizar os M-RACNTs por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análises termogravimétricas (TG), Difração de Raio-X e potencial zeta;
- f) Estudar as cinéticas e as isotermas de adsorção do Pb^{2+} e Cd^{2+} nos M-RACNTs.
- g) Otimizar uma metodologia de extração em fase sólida dispersiva de Pb^{2+} e Cd^{2+} em amostras de leite, usando os M-RACNT e seguido de análise por FAAS;
- h) Verificar a presença e determinar a concentração de Pb^{2+} e/ou Cd^{2+} em amostras reais de leites comercializadas no sul de Minas Gerais.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Nos tópicos a seguir serão descritos os reagentes e equipamentos utilizados para a realização dos estudos; bem como as metodologias dos diferentes procedimentos realizados ao longo do trabalho.

5.1 REAGENTES, AMOSTRAS E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho foram de grau analítico. As soluções foram preparadas empregando-se água deionizada 18,2 Ω Wcm, obtida do purificador Milli-Q da Millipore (Bedford, EUA). As soluções de trabalho de chumbo e cádmio foram preparadas a partir da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ (Sigma-Aldrich.). O CNT utilizado foi de paredes múltiplas com diâmetros de 50-90 nm e pureza superior a 95%, adquirido da Sigma-Aldrich. Os reagentes utilizados para síntese foram hidróxido de amônio P.A. (Pro Analysis), solução de glutaraldeído 50 wt. % em H₂O (Sigma-Aldrich), albumina sérica bovina (BSA) (Sigma-Aldrich), cloreto de ferro (III) hexahidratado (Sigma-Aldrich), sulfato de ferro (II) heptahidratado (Sigma-Aldrich), boro hidreto de sódio (Merck) e ácido nítrico P.A (Merck).

As vidrarias foram mantidas em solução de ácido nítrico 10 % (v/v) durante 12 h para descontaminação. Na sequência, foram enxaguadas com água Milli-Q e secas previamente ao uso.

5.2 INSTRUMENTAÇÃO E ACESSÓRIOS

Todas as medidas para determinação de Pb²⁺ e Cd²⁺ foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica FAAS, modelo Shimadzu AA-7000 (Shimadzu®, Tóquio, Japão), equipado com uma lâmpada de cátodo oco tanto para chumbo como para cádmio e uma lâmpada de deutério para correção de fundo. Os resultados foram obtidos pelas medidas de absorbância (altura máxima do pico) a 217,0 nm para Pb²⁺ e 228,8 nm para Cd²⁺, com corrente da lâmpada de catodo oco fixada a 8 mA. A chama foi operada com fluxo de acetileno e de ar de 0,8 L min⁻¹ e 3,6 L min⁻¹, respectivamente.

Os materiais sintetizados foram caracterizados por microscopia eletrônica de transmissão, a partir de imagens capturadas por um microscópio FEI TECNAI G2 S-TWIN equipado com filamentos de LaB6, análise termogravimétrica, utilizando uma termobalança Shimadzu -DTG – 60 AH e cadinho de alumina; espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, a partir de análises em um espectrofotômetro Shimadzu - Prestige 21; potencial zeta, utilizando um analisador de partículas Zetasizer nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido); difração de raio-X, a partir de análises com equipamento Rigaku, modelo Última IV; e análise elementar, utilizando o analisador elementar da Leco instrumentos LTDA – modelo TruSpec CHNS (com porta amostras de estanho). As análises de exclusão de proteína foram realizadas utilizando um espectrofotômetro ultravioleta-visível KASUAKI (modelo IL-593-BI).

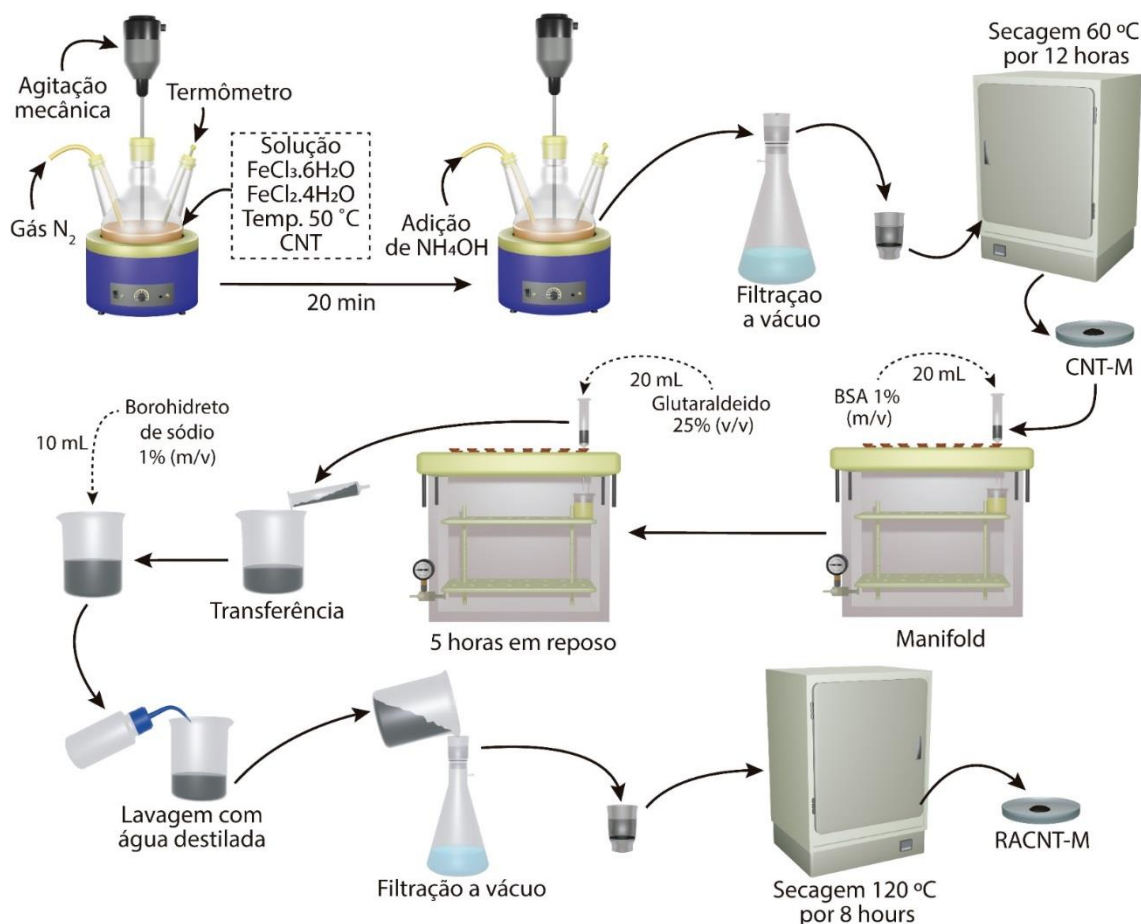
5.3 SÍNTESE DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO

Partículas de magnetita foram sintetizadas pelo método de co-precipitação, de acordo com Mendes e colaboradores (MENDES *et al.*, 2020). Primeiro, 50 mL de água deionizada 18,2 Ω Wcm foram adicionados a um em um balão de três bocas e aquecidos a 50 °C. Em seguida, foram adicionados ao balão 80 mL de solução aquosa de cloreto de ferro (III) hexahidratado (0,1875 mol L⁻¹) e sulfato de ferro (II) hepta-hidratado (0,125 mol. L⁻¹). Após, 250 mg de CNTs foram adicionados e o sistema foi mantido por 20 min sobre agitação mecânica. Por fim, 2,5 mL de NH₄OH a 30% (v:v) foram adicionados gota a gota manualmente com auxílio de uma seringa e a reação ocorreu por mais 30 min. Todo o processo de síntese foi realizado sob agitação e atmosfera de nitrogênio. Os M-CNTs obtidos foram separados com ímã de neodímio (duas peças unidas de tamanho 50x25x10 mm com N50, cada peça), lavados com água até pH neutro e secos a 60 °C por 12 h, como mostrado na Figura 10.

Os M-CNTs foram recobertos com BSA de acordo com o procedimento de Moraes e colaboradores (2013) (DE OLIVEIRA ISAC MORAES *et al.*, 2013). Inicialmente, 20 mL de uma solução de BSA a 1% (m/v) (preparada em tampão fosfato 50 mmol L⁻¹, pH 6,0) foram percolados (utilizando SPE manifolds e uma bomba peristáltica) com uma vazão de 1 mL min⁻¹ através de um cartucho (cartucho de extração de fase sólida SPE, C18) contendo 500 mg de M-CNTs (Figura 10). Em seguida, 5 mL de uma solução aquosa de glutaraldeído a 25% (m/v)

foram percolados através do mesmo cartucho, em um fluxo de 1 mL min^{-1} , e o sistema foi mantido em repouso por 5 h. Após o tempo de espera, as partículas obtidas foram separadas e dispersas em 10 mL de uma solução de borohidreto de sódio a 1% (m/v), a reação ocorreu sob agitação por 15 min. O material final foi separado com o uso de imã de neodímio, lavado abundantemente com água e seco a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 h (Figura 10).

Figura 10 - Procedimento de síntese do nanotubo magnético de acesso restrito.



Fonte: do autor.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOTUBOS DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO

Previamente às análises no microscópio de transmissão, as amostras de magnetita, M-CNT e M-RACNT foram preparadas a partir do gotejamento da suspensão do material em uma

grade apropriada. As amostras foram deixadas em temperatura ambiente para que secassem e assim, as imagens dos materiais pudessem ser capturadas.

Para os ensaios de termogravimetria (TG), os materiais foram submetidos a aquecimento na faixa de 30 a 1000 °C, com uma razão de 10 °C min. As análises foram realizadas em atmosfera oxidante (60 cm² min⁻¹).

A espectroscopia de infravermelho de transformada de Fourier FTIR foi realizada na faixa de 4000 - 400 cm⁻¹. As amostras foram preparadas pela maceração de forma qualitativa de cada material em almofariz de ágata com brometo de potássio (KBr) e posterior pastilhamento em prensa hidráulica.

Para as análises de potencial zeta, suspensões dos materiais (5 mg mL⁻¹) foram inicialmente preparadas em água milli-Q. As suspensões foram mantidas em ultrassom por 30 min e agitadas em vórtex. Em seguida, 0,2 mL das suspensões foram adicionados em 10 mL de tampão fosfato 20 mmol L⁻¹, com pHs variando de 3 a 10. As análises (n=3) foram realizadas após 24 h de repouso. O mesmo procedimento foi realizado para a solução de BSA.

As medidas de raio-X foram obtidas a partir de irradiação α (1,54051 Å) com CuK. A corrente e voltagem empregadas foram 30 mA e 40 KV, respectivamente. O intervalo de 2 θ variou de 10 a 80° a uma razão de 4° min⁻¹.

5.5 EXCLUSÃO DE PROTEÍNAS

Os testes de exclusão de proteínas foram realizados com o intuito de verificar a formação da camada de BSA e a capacidade dos M-RACNTs em evitar a adsorção de proteínas em sua superfície. A capacidade dos M-CNTs e M-RACNTs em excluir BSA presente no meio foi avaliada em dois pHs diferentes: 7,5 e 4,1.

Uma solução de BSA (50 mg L⁻¹) foi preparada em tampão fosfato (10 mmol L⁻¹, pH 7,5). Primeiro, 200 μ L da solução foram colocadas em um tubo de ensaio contendo 2,8 mL do reagente de Bradford. Após 10 min a absorbância da amostra foi medida (λ = 595 nm) e considerada como 100% de BSA. Na sequência, 1 mL da mesma solução de BSA foi adicionada em tubos de ensaio (n=3) contendo 5 mg de M-CNT ou M-RACNT. As amostras foram agitadas por 30 min, os sobrenadantes foram separados usando um ímã de neodímio e 200 μ L do

sobrenadante foram tratados com 2,8 mL do reagente de Bradford. Após 10 min, as leituras foram realizadas. A absorbância da solução de BSA que ficou em contato com os materiais dividida pela absorbância do padrão de BSA, correspondeu ao percentual de proteína excluída pelos materiais.

5.6 CINÉTICAS E ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Os ensaios de cinética foram realizados a partir da agitação de uma solução de Cd^{2+} ou de Pb^{2+} (preparadas em água Milli-Q) com os M-RACNTs sintetizados por diferentes tempos. Inicialmente, 1 mL de uma solução 10 mg L^{-1} (pH 4,5) de Cd^{2+} ou 1 mL de uma solução 5 mg L^{-1} (pH 4,0) de Pb^{2+} foram colocadas em tubos de ensaio contendo 5 mg de M-RACNTs. Os tubos foram agitados (1000 rpm e temperatura ambiente controlado em 24°C) por 0,083; 0,5; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 min para o Cd^{2+} e por 0,083; 0,16; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 8,0 e 12,0 min para o Pb^{2+} . Após cada tempo, os sobrenadantes foram separados dos materiais utilizando o ímã de neodímio e as concentrações dos analitos foram determinadas usando o FAAS (assim como descrito no item 4.2).

A partir das análises, foi possível calcular a capacidade de adsorção no equilíbrio (q_e , mg de metal por g de M-RACNT) utilizando a equação 7 abaixo, na qual C_0 é a concentração inicial e C_e , a concentração no equilíbrio (ambas em mg L^{-1}), m (g) é a massa do sorvente, e v (L) é o volume de solução utilizada.

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{m} * v \quad (\text{Equação 7})$$

Por fim, os dados foram tratados com diferentes modelos de cinética: pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, ordem fracionária, e quimissorção (Elovich). O coeficiente de determinação (R^2), obtido a partir dos ajustes, e a função erro (Ferror), obtida pela equação 8, foram utilizados para avaliar qual o modelo melhor representou os dados obtidos para Cd^{2+} e Pb^{2+} .

$$Error = \sqrt{\left(\frac{1}{n-p}\right) \sum_i^n + (q_{i,exp} - q_{i,teórico})^2} \quad (\text{Equação 8})$$

na qual n e p são, respectivamente, o número de experimentos e o número de parâmetros do modelo; $q_{i,exp}$ é cada valor de q_e obtido experimentalmente; e q_i , teórico e cada valor estimado pelo modelo avaliado.

Já para as isotermas de adsorção, os M-RACNTs foram agitados com soluções dos analitos (preparadas em água Milli-Q. pH 4,5, para o Cd^{2+} e pH 4,0, para o Pb^{2+}) preparadas em diferentes concentrações. Para o Cd^{2+} , 1 mL de solução nas concentrações de 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 250, 300, 400, 500, e 600 mg L⁻¹ foram adicionadas a tubos de ensaio contendo 5 mg dos materiais. Os tubos foram agitados por 5 min (25 °C, 1000 rpm). Na sequência, os sobrenadantes foram separados usando o ímã e a concentração de Cd^{2+} foi determinado usando FAAS. O mesmo procedimento foi realizado para o Pb^{2+} , mas usando concentrações de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, e 80 mg L⁻¹.

Assim como para a cinética, os valores de q_e foram calculados (equação 7) e os dados foram ajustados com diferentes modelos de isoterma: Langmuir, Freundlich, Sips, Khan, Toth e Redlich-Peterson. Melhores R² e menores erros foram, mais uma vez, utilizados como critérios para a escolha do melhor modelo de ajuste.

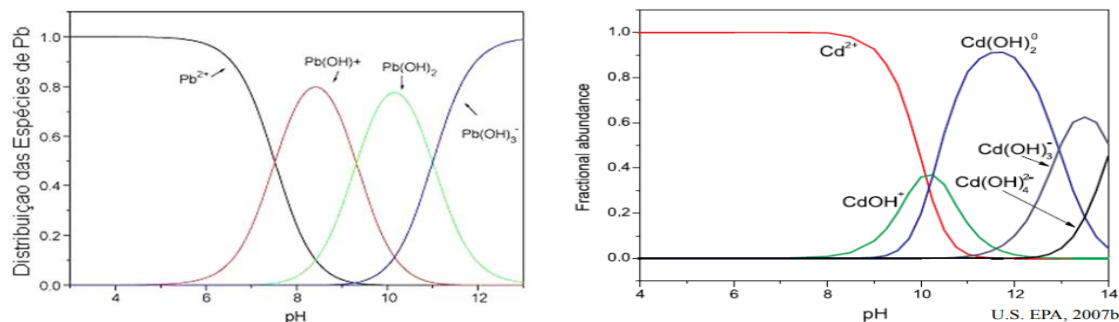
Vale ressaltar que os experimentos de cinética e isoterma foram realizados em triplicata e os dados foram tratados utilizando o *software* OriginLab[®] (Northampton, USA).

5.7 OTIMIZAÇÃO DO pH PARA O PROCESSO DE EXTRAÇÃO

A acidez da amostra tem grande influência no processo de complexação de íons metálicos e, conseqüentemente, na eficiência de extração, como podemos observar na Figura 11, mostra o comportamento do chumbo e do cádmio numa faixa de pH de 14 a 3 (GOI *et al.*, 2018; PIETROBELLI *et al.*, 2013), observando que os pH < 7,0 apresentam em estado de íon Pb^{2+} e Cd^{2+} . Dessa forma, para o estudo da extração do Pb^{2+} as amostras tiveram seus pHs ajustados para 2,0, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 e 6,0. Para o Cd^{2+} , além dos valores citados, o pH 7,0 também foi avaliado. O ajuste de pH foi realizado com ácido nítrico P.A. 45 mL da amostra foram agitados com 30 mg dos M-RACNTs por 30 min para extração e 20 min para dessorção.

Após, os sobrenadantes foram separados, e os materiais foram eluídos com 0,5 mL de ácido nítrico ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) antes da análise por FAAS.

Figura 11- Distribuição de espécie de chumbo e cádmio em função do pH.



Fonte: (GOI *et al.*, 2018; PIETROBELLI *et al.*, 2013)

5.8 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA PARA O PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO

Para o processo de otimização, as variáveis estudadas foram o tempo de extração (TE), tempo de dessorção (TD), concentração do eluente (CE), volume de eluente (VE), e massa de M-RACNT (M). Um planejamento fatorial do tipo 2^{5-1} envolvendo 16 experimentos, seguido da matriz de Doehlert. Amostras de leite fortificado com Cd^{2+} ou Pb^{2+} ($500 \mu\text{g L}^{-1}$) tiveram seus pHs ajustados (4,5 para Cd^{2+} e 4,0 para Pb^{2+}) e foram avaliadas em dois níveis, codificados de máximos (+) e mínimos (-). Os 16 conjuntos de experimentos foram realizados em duplicata e executados de forma aleatória.

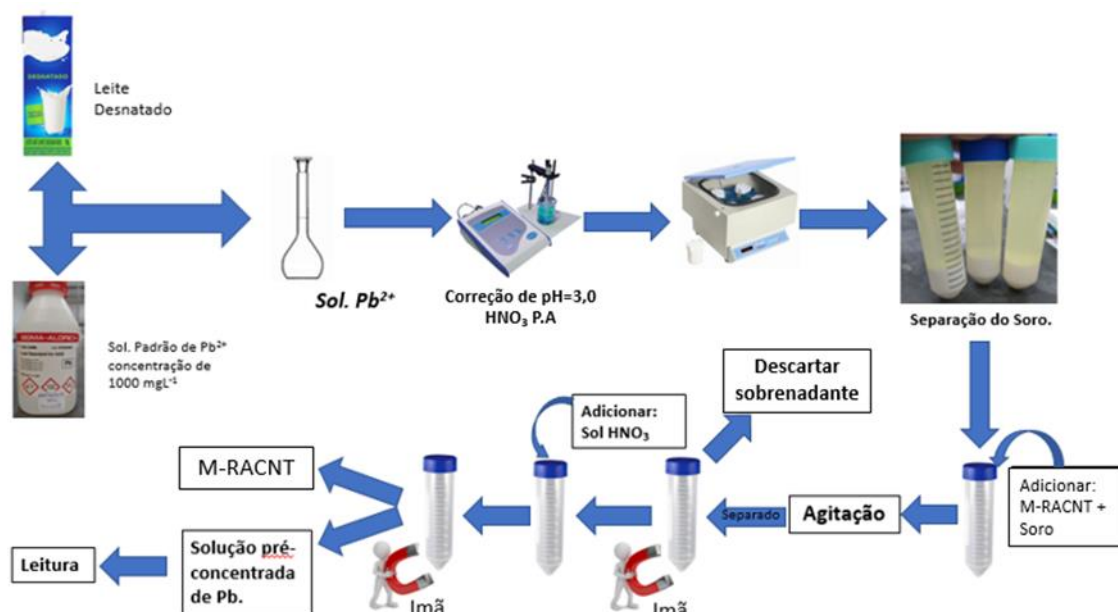
As variáveis significativas foram selecionadas por meio do diagrama de Pareto e as superfícies de respostas foram obtidas a partir da matriz de Doehlert. Por fim, os valores máximos de cada variável foram selecionados como condição de trabalho. Vale ressaltar que os dados foram tratados com o *software* STATISTICA 6.0 (StatSoft®, Tulsa, USA), considerando a significância estatística a um nível de 95% de confiança.

5.9 PROCESSO OTIMIZADO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DISPERSIVA MAGNÉTICA

O preparo das amostras de leite, após o processo de otimização, foi realizado como descrito a seguir (Figura 12). Inicialmente o pH do leite foi ajustado para 4,0 ou 4,5 (para Pb^{2+} ou Cd^{2+} , respectivamente), processo que também promove a precipitação de parte da caseína presente no leite. Na sequência, o leite foi centrifugado para a separação do soro (5478 g, 10 min). 30 mg de M-RACNTs foram adicionados em um tubo Falcon (50 mL) juntamente com 45 mL de soro de leite e o sistema foi agitado por 28 min em temperatura ambiente. Após a extração, um ímã de neodímio foi utilizado para separar o material do sobrenadante, que foi descartado. Posteriormente o Pb^{2+} ou o Cd^{2+} foi desorvido com 0,4 mL de ácido nítrico (1,00 ou 1,26 mol L^{-1} para Cd^{2+} e Pb^{2+} , respectivamente), com agitação por 5 min. O sobrenadante foi separado utilizando o ímã e analisado por FAAS.

Para os ensaios de validação, as amostras de leite foram dopadas com a concentração dos metais desejada e agitadas em vórtex por 1 min previamente ao ajuste do pH. Para as análises de amostras reais ou para as amostras branco, essa etapa de fortificação não foi realizada.

Figura 12 - Procedimento de extração de chumbo ou cádmio.



Fonte: do autor.

5.10 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Os métodos foram validados de acordo com o guia do FDA (*Food and Drug Administration*) e com a normativa 2002/657/EC da União Europeia (96/23/EC COMMISSION, 2002; FDA, 2013). Parâmetros como linearidade, limites de detecção (LOD), limites de quantificação (LOQ), precisão intra e inter-dia e exatidão intra e inter-dia foram avaliados.

As curvas analíticas foram construídas fortificando um *pool* (n=3) de leite cru comercial com padrões de Pb^{2+} ou Cd^{2+} . A faixa de trabalho compreendeu concentrações de 10 a 150 $\mu g L^{-1}$. As amostras foram extraídas com os M-RACNTs e os eluatos foram analisados por FAAS.

Os LODs (limite de detecção, do inglês *limit of detection*) foram definidos como 3 vezes a razão entre o desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica, enquanto os LOQs (limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*) foram definidos como o primeiro ponto da curva analítica. A precisão (como desvio padrão relativo – DPR%, Equação 9) e a exatidão (como erro relativo – E%, Equação 10) foram calculadas para as concentrações de 10, 50 e 150 $\mu g L^{-1}$ para Pb^{2+} e 10, 100 e 150 $\mu g L^{-1}$ para Cd^{2+} . Os ensaios intra-dia foram analisados no mesmo dia (n=3), e os ensaios inter-dia foram realizados em 3 dias consecutivos (n=9).

$$DPR\% = DP/A \times 100 \quad (\text{Equação 9})$$

$$E = ((AC-RC))/RC \times 100 \quad (\text{Equação 10})$$

Onde o DP é o desvio padrão das respostas analíticas, A é a média das respostas analíticas, e AC e RC são concentrações reais e nominais, respectivamente.

5.10.1 ENSAIO DE ROBUSTEZ

A robustez do método proposto foi avaliada de acordo com o teste de Youden. Os estudos foram realizados em triplicata e a partir de amostras de leite fortificado (150 $\mu g L^{-1}$)

com pH ajustado para 4,0 (Pb^{2+}) ou 4,5 (Cd^{2+}). A ordem de realização dos testes foi aleatória e definida por sorteio.

O teste de Youden avalia se pequenas variações nos métodos afetam significativamente suas respostas. Dessa forma, sete parâmetros foram estudados: tempo de extração (TE), tempo de dessorção (TD), massa do adsorvente (M), volume da amostra (VA), volume de eluição (VE), concentração do eluente (CE) e velocidade de agitação (V) (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros para avaliar a robustez do método proposto.

Parâmetros	Varição	Otimizado	Varição	Otimizado
	(-)	(+)	(-)	(+)
	Pb^{2+}		Cd^{2+}	
Tempo de extração	26 min	28 min	26 min	28 min
Tempo de dessorção	4 min	5 min	4 min	5 min
Concentração HNO_3	1 mol L ⁻¹	1,2 mol L ⁻¹	0,9 mol L ⁻¹	1,0 mol L ⁻¹
Volume de eluição	0,37	0,4	0,37 mL	0,4 mL
Massa de material	28 mg	30 mg	28 mg	30 mg
Volume de amostra	38 mL	40 mL	38 mL	40 mL
Velocidade de agitação	3500 rpm	4000 rpm	3500 rpm	4000 rpm

O método é considerado robusto quando as respostas analíticas obtidas com o método realizado com os parâmetros alterados não são significativamente diferentes das respostas obtidas com o método otimizado ($p > 0,05$).

5.11 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

As amostras de leite integral (n=6) foram adquiridas no comércio local (Alfenas, MG), e utilizadas imediatamente. Primeiro as amostras tiveram seus pHs ajustados para 4,0 ou 4,5 e, na sequência foram submetidas aos processos de d-SPE otimizados para Pb^{2+} ou Cd^{2+} . Por fim, as amostras foram analisadas pelos métodos analíticos validados com o intuito de determinar a presença e a concentração dos metais. Os ensaios foram realizados em quintuplicata.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos tópicos abaixo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos nas diferentes etapas desse trabalho.

6.1 SÍNTESE DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO

No método de co-precipitação, a magnetita é sintetizada, de forma relativamente rápida e simples, a partir de soluções aquosas de sais de Fe^{2+} e Fe^{3+} , em pH alcalino e atmosfera inerte (AHN *et al.*, 2012). Nesse trabalho, a proporção 1,5:1,0 Fe^{3+} : Fe^{2+} , foi utilizada seguindo o estabelecido por alguns trabalhos da literatura (CHEN; XIE; SHI, 2013; MENDES *et al.*, 2020). Ademais, Chen e colaboradores (2013) observaram que a proporção dos sais afetava diretamente a formação de nanopartículas funcionalizadas com oleato, e essas apresentavam maior saturação magnética (refere-se ao estado em que o aumento da campo magnético não pode aumentar a magnetização do material) quando a proporção de 1,5:1,0 Fe^{3+} : Fe^{2+} era utilizada (JIANG *et al.*, 2011).

Já no revestimento com a BSA, duas etapas de síntese são importantes: a primeira delas é o entrecruzamento das proteínas utilizando o glutaraldeído; nessa etapa são formadas ligações imina entre os grupamentos aldeído do glutaraldeído e grupamentos amino terminais da BSA. A segunda etapa, refere-se à redução das ligações iminas formadas anteriormente a aminas, que são mais estáveis e menos propensas a sofrer hidrólise (MENEZES; FÈLIX, 1998).

Os materiais sintetizados apresentaram coloração escura, assim como os nanotubos de carbono crus e boa resposta ao ímã de neodímio.

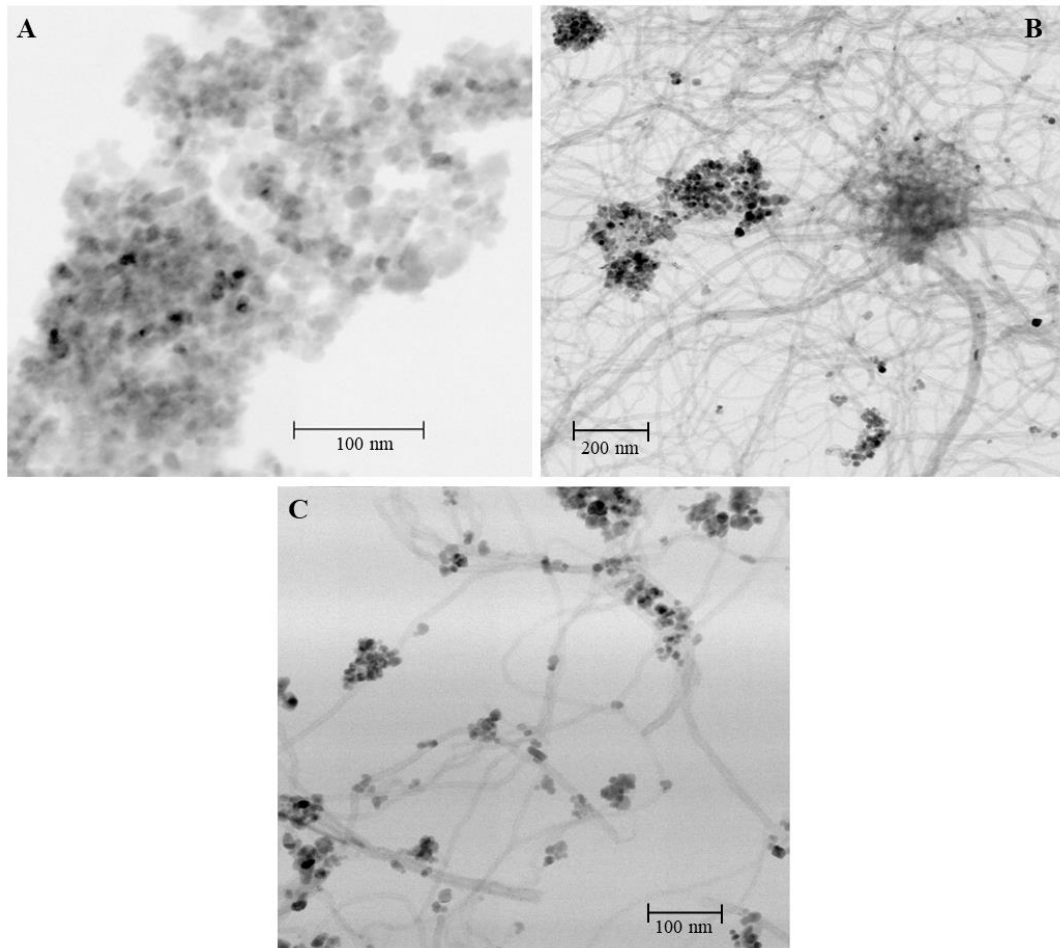
6.2 CARACTERIZAÇÃO DO NANOTUBO DE CARBONO MAGNÉTICO DE ACESSO RESTRITO

Na sequência serão apresentados os resultados e discussões para os diferentes ensaios de caracterização realizados para os materiais: magnetita, M-CNT e M-RACNT.

6.2.1 Microscopia eletrônica de transmissão

A morfologia da magnetita e dos nanotubos de carbono, M-CNTs e M-RACNTs, foram avaliadas utilizando a microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Como pode ser observado na Figura 13, a magnetita apresenta uma estrutura esférica e é possível observar sua presença junto aos M-CNTs (Figura 12B) e aos M-RACNTs (Figura 12C). Os M-RACNTs não foi possível observar a camada externa de BSA.

Figura 13 - Imagens obtidas a partir da microscopia eletrônica de transmissão: magnetita (A), nanotubo de carbono magnético (B), e nanotubo de carbono magnético de acesso restrito (C).



Fonte: Autor

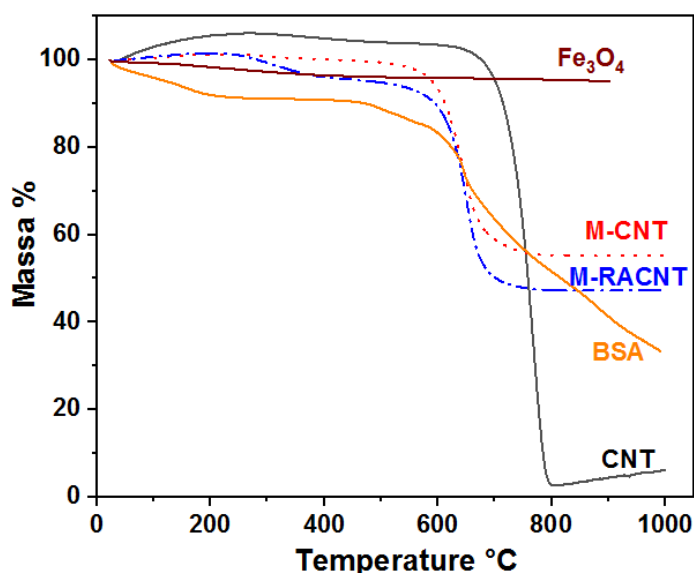
6.2.2 Análises termogravimétrica

As análises termogravimétricas para M-CNTs, M-RACNTs, magnetita (Fe_3O_4), CNTs e BSA comercial são mostradas na Figura 14 abaixo. Como pode ser observado, em linhas gerais as TGs dos materiais M-CNT e M-RACNT demonstram que as perdas de massa mais significativas (aproximadamente 45%) ocorreram na faixa de 630 °C a 810 °C, e estas podem ser relacionadas com a degradação da matriz carbonácea (THI MAI HOA, 2018). Condições de estabilidade foram obtidas a partir de 830 °C para Fe_3O_4 , M-CNTs e M-RACNTs. Os CNTs crus perderam mais de 90% de sua massa inicial ao fim da análise, demonstrando que parte dos M-CNTs e M-RACNTs é formada pelas nanopartículas magnéticas.

Os M-RACNTs apresentaram perda de massa (6%) entre 220 °C e 620 °C, devido à camada de BSA incorporada superficialmente. A BSA comercial também apresentou perda de massa entre 220 °C e 630 °C, devido a desnaturação e degradação das proteínas (ÇALIMLI *et al.*, 2018).

O pequeno ganho de massa observado para os CNTs comerciais para temperaturas abaixo de 400 °C provavelmente está relacionado com possíveis impurezas adquiridas do meio. Além disso, perdas de massa abaixo de 200 °C estão relacionadas à evaporação de H_2O .

Figura 14 - Curva TG do Fe_3O_4 , BSA, CNT, M-CNT e M-RACNT. em atmosfera de ar sintético.

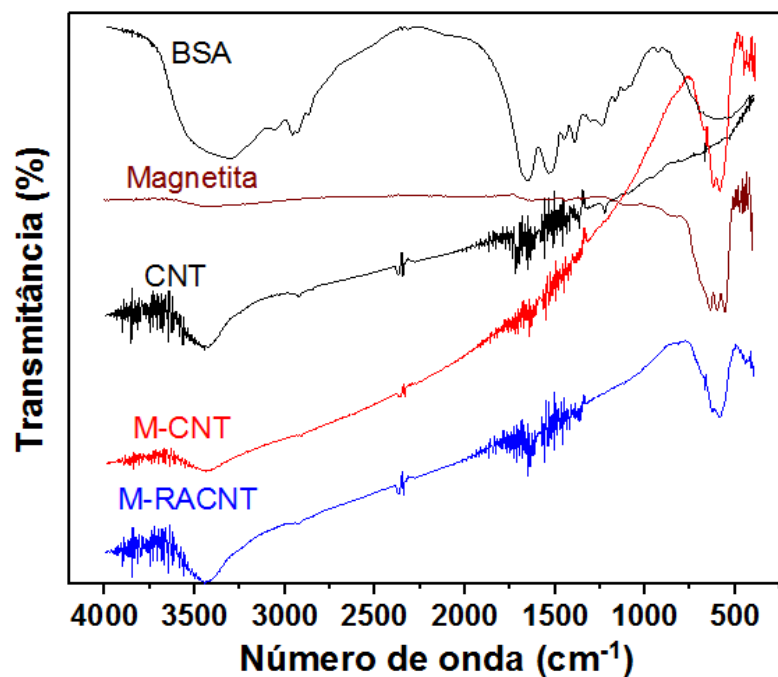


Fonte: Autor

6.2.3 Espectroscopia no infravermelho

Os espectros de infravermelho obtidos para o M-RACNT, bem como para seus intermediários de síntese são mostrados na Figura 15 abaixo.

Figura 15 - Espectros de infravermelho para os M-RACNTs e seus intermediários de síntese.



Fonte: Autor

Nota: albumina sérica bovina comercial (BSA), nanotubo de carbono comercial (CNT), nanotubo de carbono magnético (M-CNT) e nanotubo de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNT).

Pela figura acima, pode-se observar que os materiais magnéticos apresentam bandas em $600 - 550 \text{ cm}^{-1}$, características do estiramento Fe-O, confirmando a existência de Fe e sua ligação com oxigênio. Para os CNTs, M-CNTs e M-RACNTs, as bandas em 1700 cm^{-1} correspondentes a C=O de carbonilas e as bandas de $1300 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ podem sugerir a presença de C-O. As bandas observadas em 2300 cm^{-1} estão relacionadas ao CO_2 .

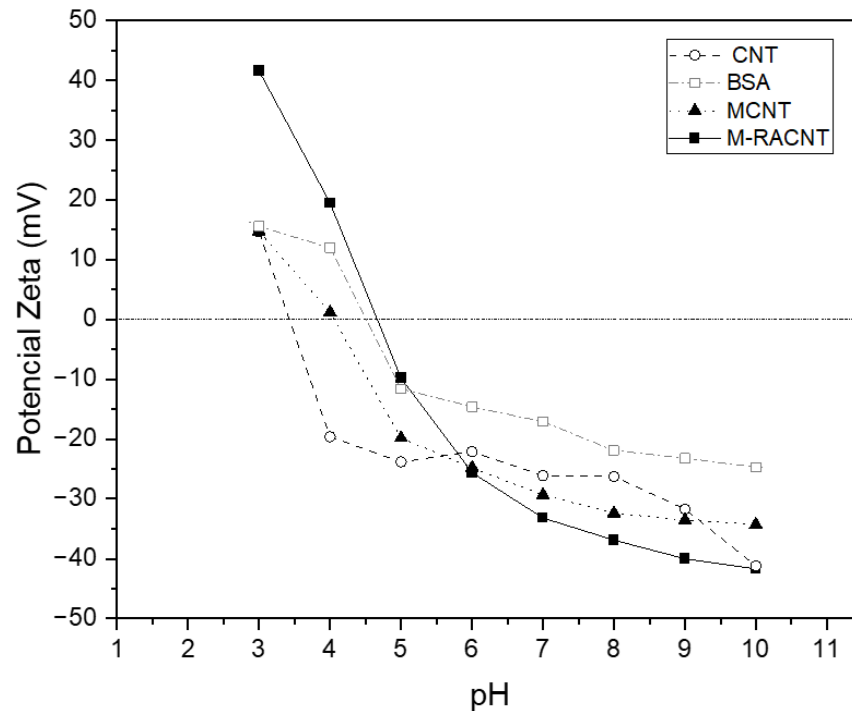
No espectro da BSA comercial, pode-se observar bandas em: 1200 cm^{-1} , correspondente a amidas III; 1100 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C-N; e 1650 cm^{-1} , relacionada com a amida I. Ainda de acordo com a literatura, a região entre 1150 e 1000 cm^{-1} está associada aos grupos laterais dos aminoácidos presentes na BSA (ROBERT M. SILVERSTEIN; FRANCIS

X. WEBSTER; KIEMLE DAVID J., 2014). A presença do BSA não foi observada com tanta clareza para os espectros dos M-RACNTs. Os nanotubos de carbono são materiais escuros e de alta simetria, gerando espectros mais ruidosos e com uma menor definição de bandas (ES'HAGHI; EBRAHIMI; HOSSEINI, 2011).

6.2.4 Potencial zeta

O estudo de potencial zeta permite inferir sobre a carga superficial dos materiais ao longo da faixa de pH. A superfície de um sorvente normalmente contém grupos químicos que sofrem ionização dependendo das condições do meio. Pela análise de potencial zeta é possível ainda determinar o ponto isoelétrico de um material. O ponto isoelétrico refere-se à condição em que o número de grupos ionizados positivamente se iguala ao número de grupos ionizados negativamente, resultando em um balanço nulo de cargas. Os resultados para os M-RACNT e para os seus intermediários de síntese são mostrados na Figura 16 abaixo.

Figura 16 - Potencial zeta em função do pH. CNT: nanotubos de carbono; BSA: albumina sérica bovina, MCNT: nanotubo de carbono magnético, e M-RACNT: nanotubo de carbono magnético de acesso restrito.



Fonte: Autor

O M-CNT apresentou ponto isoelétrico em 4,0 e o M-RACNT, em 4,6. O ligeiro aumento pode ser devido à incorporação da camada de BSA, tendo em vista que esta molécula isolada apresentou um potencial isoelétrico entre 4 e 5, assim como o descrito na literatura (MEDDA; MONDUZZI; SALIS, 2015). Pode-se observar ainda que o M-CNT apresentou potencial isoelétrico maior que o CNT, possivelmente devido à presença da magnetita.

6.2.5 Difração de raio-X

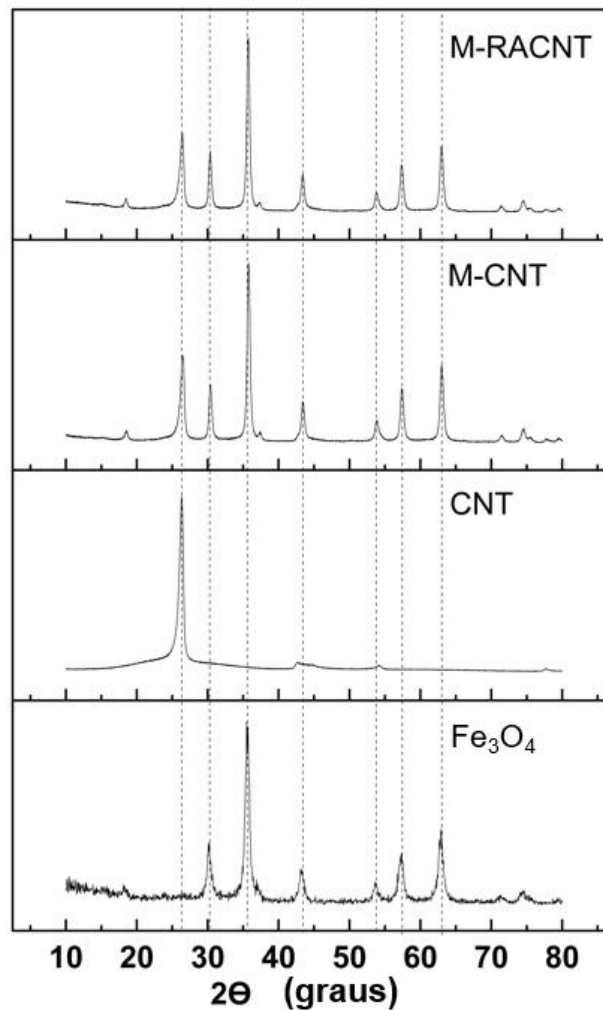
A difração de Raio-X é uma técnica pela qual é possível inferir sobre a estrutura cristalina, presença de impurezas, tensão estrutural e o espaçamento intercamadas de CNTs. O difratograma da amostra de magnetita apresentou padrão de DRX (Figura 17) referente à formação de um material constituído por uma única fase cristalina cúbica do tipo espinélio com os picos em 30, 35, 43, 53, 57 e 63 Θ . (NALBANDIAN *et al.*, 2008). A estrutura cristalina

cúbica do tipo espinélio é característica de materiais de óxido de ferro, conhecido como ferritas, MFe_2O_4 (onde M pode ser Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , entre outros). A magnetita, Fe_3O_4 é um exemplo dessa estrutura sendo que seus íons oxigênio estão em um arranjo cúbico de face centrada e os íons metálicos Fe^{2+} e Fe^{3+} ocupam os sítios entre os íons oxigênio (KOROLEV; AREFYEV; RAMAZANOVA, 2008).

Pela análise dos difratogramas referentes aos CNT, M-CNTs, e M-RACNT observa-se dois picos $2\theta = 25$ e 43° que são característicos do grafeno e estão presentes no padrão de difração do CNT, sendo que a intensidade e a largura destes picos estão ligadas diretamente a orientação do nanotubo quanto ao feixe incidente de raio-X, as deformações de rede, ao número de camadas e variações de espaçamento entre essas (BELIN; EPRON, 2005).

Pode-se dizer que a magnetita foi incorporada de forma adequada nos M-CNTs e M-RACNTs devido à similaridade dos difratogramas dessas amostras. Não foi possível observar a incorporação da camada de BSA, pois esta apresenta um caráter amorfo.

Figura 17 - Difratomogramas obtidos para magnetita (Fe_3O_4), nanotubo de carbono (CNT), nanotubo de carbono magnético (M-CNT), nanotubo de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNT).



Fonte: Autor

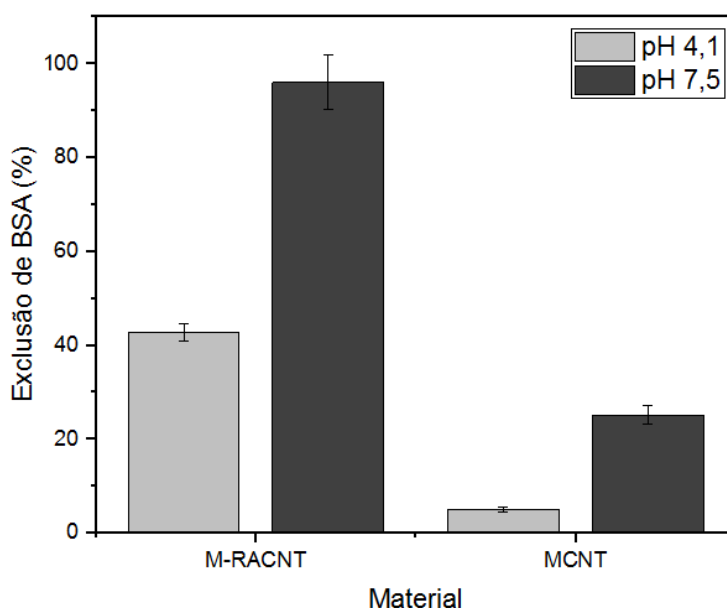
6.3 EXCLUSÃO DE PROTEÍNAS

Os materiais M-CNT e M-RACNT diferem entre si somente pela presença da camada de BSA no segundo caso. Esta camada é entrecruzada quimicamente e funciona como uma barreira protetora que impede a adsorção randômica de proteínas da amostra. Como pode ser visto na Figura 18 abaixo, M-RACNT excluiu uma maior porcentagem de BSA quando comparado com M-CNT, independente do pH avaliado. Esse resultado mostra que o M-

RACNT sintetizado realmente é um material de acesso restrito capaz de evitar a adsorção de proteínas abundantemente presentes em matrizes como o leite.

O pH 7,5 foi escolhido por ser um pH em que a BSA se encontra com carga superficial majoritariamente carregada negativamente (como demonstrado no ensaio de potencial zeta (Figura 16)). Já o pH 4,1 reflete uma condição próxima a otimizada para a extração de Cd^{2+} e Pb^{2+} das amostras de leite.

Figura 18 - Comparação da exclusão de albumina sérica bovina (BSA) pelos nanotubos magnético (M-CNT) e nanotubos magnético de acesso restrito (M-RACNT) em dois pHs diferentes.



Fonte: Autor

De acordo com Barbosa e colaboradores (2015), os mecanismos de exclusão podem ser relacionados com a repulsão eletrostática entre as proteínas do material e as proteínas presente na amostra, quando o pH do meio é diferente do ponto isoelétrico do material.

Além disso, o impedimento estérico, devido à presença de um grupamento volumoso, também se torna uma barreira física para impedir a adsorção de proteínas (DE FARIA *et al.*, 2017a).

A significativa redução da exclusão de BSA em pH 4,1 muito provavelmente está correlacionada com a diminuição da carga líquida na superfície dos materiais e também do

menor grau de ionização das proteínas presente no meio; uma vez que o ponto isoelétrico, tanto da BSA quanto dos materiais é muito próximo de 4,1. Assim, o mecanismo de repulsão eletrostática se faz menos presente.

6.4 CINÉTICAS E ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Os resultados dos testes de cinética (Figura 19) mostraram um rápido equilíbrio entre os metais e os M-RACNTs: 3,0 e 5,0 min para Cd^{2+} e Pb^{2+} , respectivamente. Solic et al. (2021) também verificaram que os íons Cd^{2+} e Pb^{2+} apresentavam uma cinética bastante rápida (com mais de 95,4% de extração antes de 5 min) quando em contato com os nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidadas (MWCNTs oxidados) (ŠOLIC *et al.*, 2021). Contudo, ao contrário dos autores citados, que obtiveram q_e (no equilíbrio) próximo de 3 mg g^{-1} para os dois metais, no presente trabalho os M-RACNTs apresentaram uma maior capacidade de extração para o Cd^{2+} .

Após os ajustes com os modelos não lineares (Figura 19, Tabela 3) foi verificado que a cinética de ordem fracionária melhor representou os dados obtidos para o Cd^{2+} (R^2 0,94041 e Ferror 4,12619). Já para o Pb^{2+} , o modelo de Elovich apresentou-se como o melhor entre os avaliados (R^2 0,97388 e Ferror $4,15 \times 10^{-13}$). O modelo de ordem fracionária considera possíveis mudanças em função da concentração do analito (OHS; KRÖDEL; WESSLING, 2018) e a cinética de Elovich assume que a superfície do material é energeticamente heterogênea (SALAM; AL-ZHRANI; KOSA, 2012) e que o mecanismo principal é a quimissorção (WANG; GUO, 2020). Contudo, ambos os metais apresentaram bons ajustes nos modelos acima citados.

Tabela 3 - Resultados dos modelos de cinéticas ajustados.

Modelo	Equação	Parâmetros	Resultados	
			Cd^{2+}	Pb^{2+}
Pseudo-primeira ordem	$q_t = q_e \{1 - [\exp(-K_1 t)]\}$	q_e (mg g^{-1})	6,17099	0,80950
		K_1 (min^{-1})	3,10873	5,94564
		R^2	0,69948	0,55998
		F_{error}	0,28876	$1,640 \times 10^{-3}$
Pseudo-segunda ordem	$q_t = \frac{K_2 q_e^2 t}{1 + K_2 q_e t}$	q_e (mg g^{-1})	6,40718	0,86360
		K_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	0,87753	9,74514
		R^2	0,86680	0,82158

		F_{error}	0,02804	$3,55695 \times 10^{-4}$
Ordem fracionária	$q_t = q_e \{1 - \exp[-(K_{AV} t)^{n_{AV}}]\}$	q_e (mg g ⁻¹)	6,64730	1,20832
		K_{AV} (min ⁻¹)	2,14301	0,51563
		n_{AV}	0,41545	0,23926
		R^2	0,94041	0,97369
		F_{error}	4,12619	5,958476
Elovich	$qt = \frac{1}{k} \ln(nk) + \frac{1}{k} \ln(t)$	k (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	1,35893	9,88061
		n (mg g ⁻¹)	473,611	100,02809
		R^2	0,91310	0,97388
		F_{error}	$4,813 \times 10^{-9}$	$4,153 \times 10^{-13}$

Fonte: Autor

Nota: M-RACNTs: nanotubos de carbono magnéticos de acesso restrito; R^2 : coeficiente de determinação;

F_{error} : função erro; q_e : quantidade de analito adsorvido por grama de material; t : tempo; K_1 : constante do modelo pseudo-primeira ordem; K_2 : constante do modelo pseudo-segunda ordem; K_{AV} : constante de Avrami; n_{AV} : expoente de Avrami; k : constante de Elovich; n : taxa inicial de adsorção.

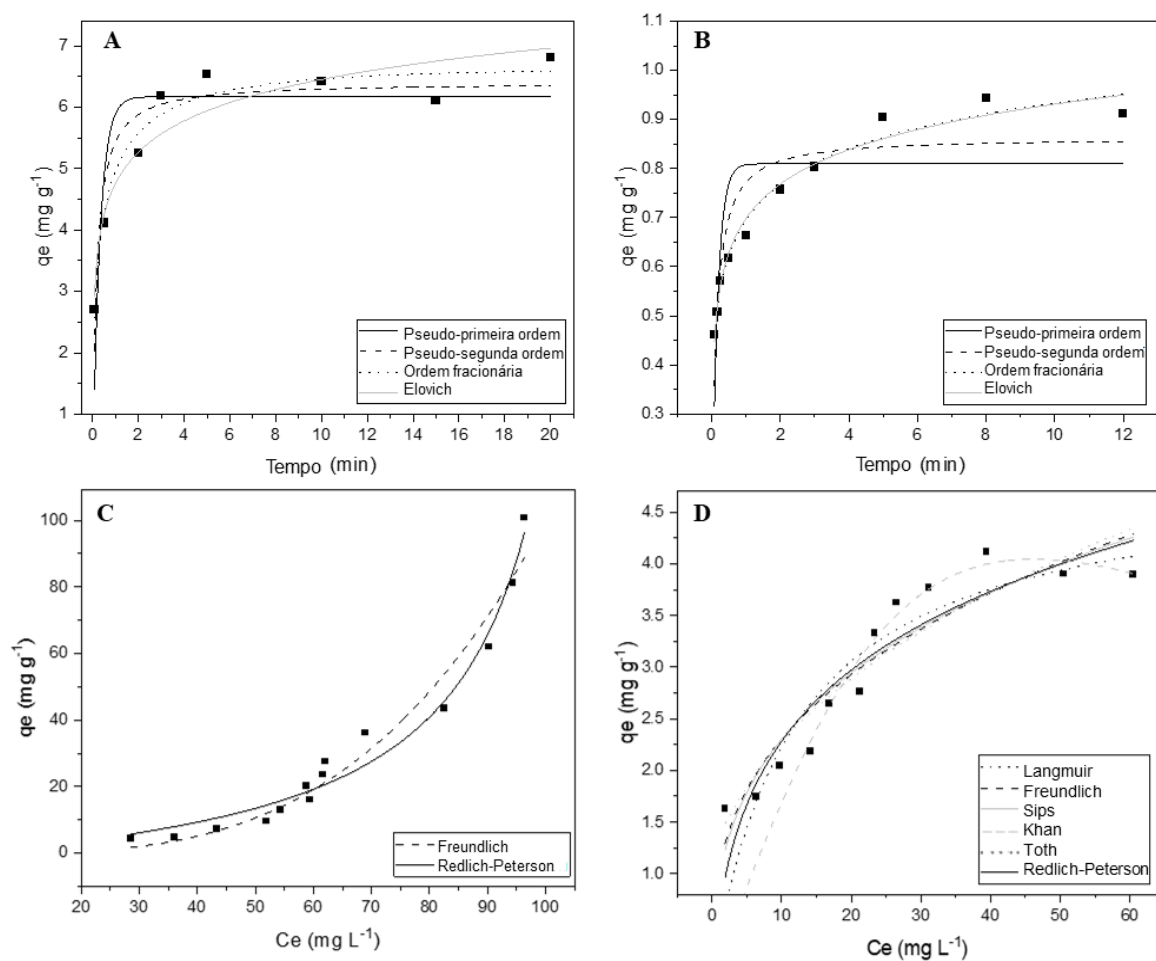
Com os dados das isotermas de adsorção (Figura 19) foi possível calcular o q_e máximo para os analitos. Valores de 100,7 e 3,9 mg g⁻¹ foram obtidos para Cd²⁺ e Pb²⁺, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os preditos pelas cinéticas de adsorção.

Os dados para o Cd²⁺ tenderam para a isoterma do tipo III, característica pela não formação de um platô e indicando que cada sítio receptor é ocupado por vários íons metálicos com a mesma energia (KHALFAOUI *et al.*, 2003). Já a isoterma para o Pb²⁺ ficou mais próxima do tipo IV, indicando a presença de materiais mesoporosos, assim como os CNTs (KAJAMA, 2015). O modelo de isoterma de Khan melhor ajustou os dados obtidos para Pb²⁺ ($R^2 = 0,90775$ e $F_{\text{error}} = 1,06506$). Já os resultados obtidos com o Cd²⁺ tiveram ajustes apenas com os modelos de Freundlich e de Redlich-Peterson (ambos com R^2 acima de 0,95 e F_{error} similares) (Tabela 4). Os resultados, para os dois metais, indicam uma superfície heterogênea com a possibilidade de adsorção em multicamadas (AL-GHOUTI; DA'ANA, 2020). O fato da tendência de crescimento e não formação do platô pode ajudar a explicar o não ajuste dos modelos de isotermas mais comuns para o Cd²⁺.

Os CNTs podem adsorver metais pesados pela combinação de diferentes mecanismos: interação química, adsorção física e atração eletrostática (ETHAIB *et al.*, 2022). Dessa forma, os íons metálicos podem atravessar a camada externa de BSA e atingir os CNTs. Além disso, os íons positivos também podem ficar retidos na camada externa de BSA por interação eletrostática ou por ligações covalentes, ajudando a explicar o bom ajuste dos dados de cinética

ao modelo de Elovich. Contudo, nos pHs utilizados (4,0 e 4,5) a interação eletrostática dos metais com a camada de BSA pode ser diminuída devido à proximidade do ponto isoelétrico da proteína. Por fim, estudos já demonstraram que o Cd^{2+} pode se ligar covalentemente a grupos funcionais de aminoácidos de proteínas (exemplo: $-\text{OH}$, $-\text{COO}^-$, $-\text{C}=\text{O}$, $-\text{SH}$, $-\text{S-S-}$, $-\text{NH}_2$ and $-\text{NH}$ (SUHARTONO *et al.*, 2018) e que o Pb^{2+} também pode se ligar fortemente à BSA a partir do domínio I (N- terminal) ou do domínio II (AYRANCI; DUMAN, 2004; ZUORRO; LAVECCHIA, 2012)

Figura 19 - Cinéticas e isotermas obtidas para cádmio (A e C) e para chumbo (B e D).



Fonte: Autor

Nota: q_e refere-se à capacidade extrativa do nanotubo de acesso restrito e C_e é a concentração do metal no equilíbrio.

Tabela 4 - Resultados para os modelos de isotermas ajustados.

Modelo	Equação	Parâmetros	Resultados	
			Cd ²⁺	Pb ²⁺
Langmuir	$q_e = \frac{q_s K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	q _s (mg g ⁻¹)	-	4,8728
		K _L (min L ⁻¹)	-	0,08424
		R ²	-	0,80211
		F _{error}	-	3,4712
		K _F (mg g ⁻¹) (L g ⁻¹) ⁿ	3,33x10 ⁻⁵	1,04196
Freundlich	$q_e = K_F C_e^{1/n_F}$	n _F	0,30877	2,89948
		R ²	0,95717	0,86288
		F _{error}	9,36962	4,75738
		q _s (mg g ⁻¹)	-	18,52335
		K _S (mg L ⁻¹)	-	0,05493
Sips	$q_e = \frac{q_s K_S (C_e)^{n_S}}{1 + K_S (C_e)^{n_S}}$	m _s	-	0,4126
		R ²	-	0,84873
		F _{error}	-	4,94600
		K _R (g L ⁻¹)	0,15094	1,0
		a _R (mg L ⁻¹)	-0,00881	0,58418
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{K_R C_e}{1 + a_R C_e^g}$ 0 ≤ g ≤ 1	G	1	0,76209
		R ²	0,97214	0,84037
		F _{error}	12,8754	4,29296
		q _s (mg g ⁻¹)	-	8,09195
		a _K (L mg ⁻¹)	-	1,97604
Khan	$q_e = \frac{q_s b_K C_e}{(1 + b_K C_e)^{a_K}}$	b _K	-	0,02195
		R ²	-	0,90775
		F _{error}	-	1,06506
		K _T (mg g ⁻¹)	-	0,78892
		a _T (L mg ⁻¹)	-	-0,4586
Toth	$q_e = \frac{K_T C_e}{(a_T + C_e)^{1/t}}$	T	-	1,68422
		R ²	-	0,85288
		F _{error}	-	5,17634

Fonte: Autor

Nota: M-RACNTs: nanotubos de carbono magnéticos de acesso restrito; R²: coeficiente de determinação; F_{error}: função erro; q_e: quantidade de analito adsorvido no equilíbrio por grama de material; q_s: capacidade de saturação teórica; K_L: constante de Langmuir; K_F: constante de Freundlich; n_F: expoente de Freundlich; K_S: constante de Sips; n_S expoente de Sips; a_K e b_K: constantes de Khan; K_R e a_R: constantes de Redlich-Peterson; K_T e a_T: constantes de Toth; t: expoente de Toth.

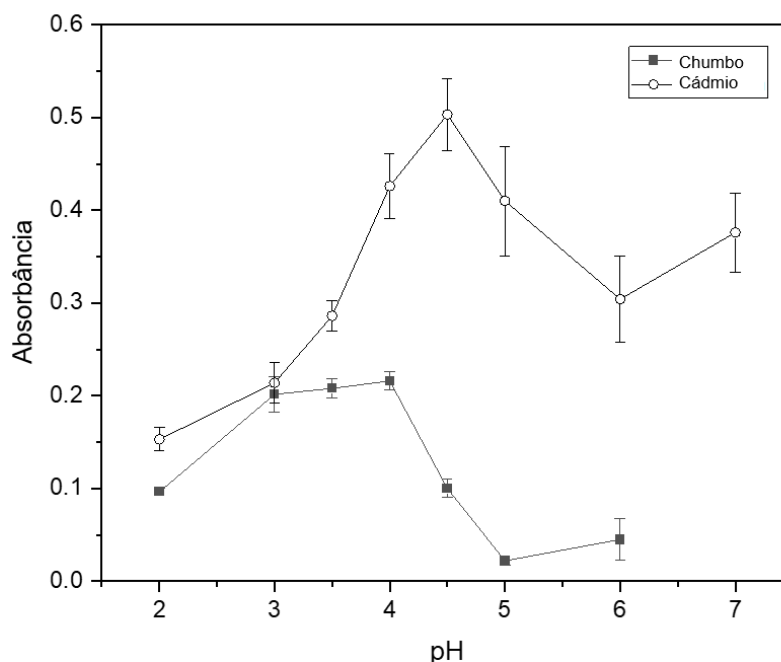
6.5 OTIMIZAÇÃO DO pH PARA A EXTRAÇÃO

Os resultados para a avaliação do pH de adsorção são mostrados na Figura 20 abaixo. Como pode ser observado, os melhores resultados de extração foram obtidos nos pHs de 4,0 e

de 4,5; para Pb^{2+} e Cd^{2+} , respectivamente. Segundo o diagrama de especiação do chumbo, entre os pHs 2,0 e 5,0 a forma predominante é o cátion divalente Pb^{2+} (SEGOVIA-SANDOVAL *et al.*, 2019). O íon Pb^{2+} pode apresentar interações de van der Waals e interações eletrostáticas com os CNTs, o que possivelmente permitiu sua melhor extração, mesmo em pH próximo do ponto isoelétrico da BSA (4,9) e da caseína (4,8) (principal proteína do leite). Como pode ser observado nos gráficos de potencial zeta (Figura 15), os CNTs, mesmo sem a camada externa de BSA, só passam a ter uma superfície majoritariamente negativa em $pH \geq 4,0$; auxiliando na interação eletrostática com os metais. Já o diagrama de especiação do cádmio mostra que a forma de cátion bivalente é predominante em pHs entre 2,0 e 9,0. Os CNTs e a BSA (Figura 15) não apresentam uma diferença de cargas significativa entre os pHs 4,5 e 7,0; por isso optou-se por adotar o pH que apresentou maior média de absorvância (4,0 e 4,5; para Pb^{2+} e Cd^{2+} , respectivamente).

Valores de pH acima de 7,0 não foram avaliados pois a literatura relata que em pHs mais alcalinos, os hidróxidos podem complexar e precipitar muitos metais (LI *et al.*, 2011). Além disso, as baixas taxas de adsorção que foram obtidas em pHs abaixo de 4,0 também podem estar relacionadas com a competição entre os hidrogênios presentes no meio e os metais para os mesmos sítios de ligação (STAFIEJ; PYRZYNSKA, 2008).

Figura 20 - Otimização do pH para o processo de extração de chumbo e cádmio, partindo da concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ para ambos.



Fonte: Autor

6.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA PARA O PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO

Os resultados dos experimentos para o design fatorial (2^{5-1}) são mostrados na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5 - Design fatorial 2^{5-1} , com 16 experimentos (32 em duplicata); e os sinais analíticos para Pb^{2+} e Cd^{2+} .

FATOR	Níveis	
	Mínimo (-)	Máximo (+)
TE/ min	5	20
TD/ min	5	20
CE, $\text{HNO}_3/\text{mol L}^{-1}$	0,1	1
VE, HNO_3/mL	0,4	2,0
M/ mg	10	30

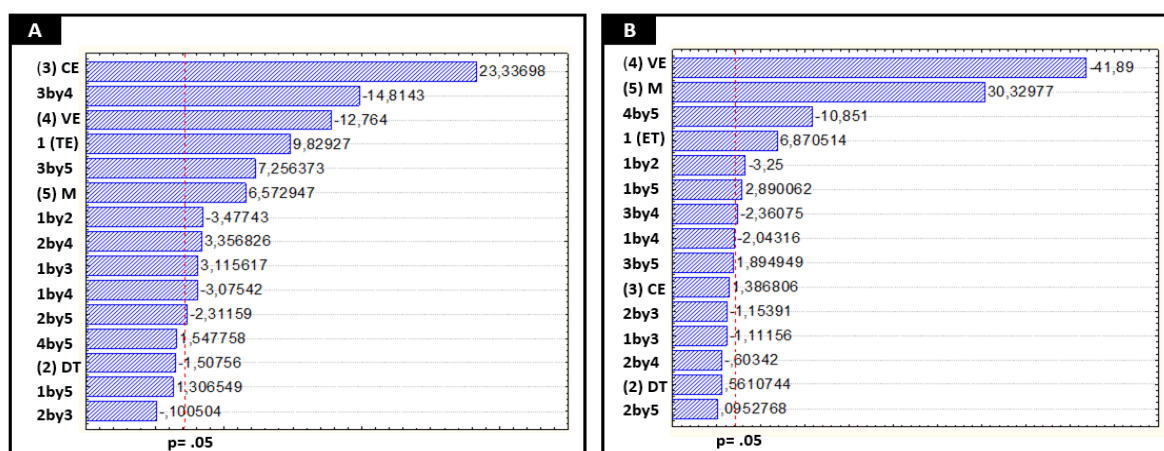
EXP	Fator					Absorbâncias			
	TE	TD	CE	VE	M	Pb^{2+}		Cd^{2+}	
1	-(5)	-(5)	-(0.1)	-(0.4)	+(30)	0,013	0,015	0,465	0,419
2	+(20)	-(5)	-(0.1)	-(0.4)	-(10)	0,052	0,058	0,283	0,295
3	-(5)	+(20)	-(0.1)	-(0.4)	-(10)	0,022	0,02	0,260	0,260
4	+(20)	+(20)	-(0.1)	-(0.4)	+(30)	0,023	0,03	0,562	0,503

5	-(5)	-(5)	+(1)	-(0.4)	-(10)	0,125	0,084	0,247	0,257
6	+(20)	-(5)	+(1)	-(0.4)	+(30)	0,210	0,211	0,571	0,571
7	-(5)	+(20)	+(1)	-(0.4)	+(30)	0,125	0,143	0,524	0,493
8	+(20)	+(20)	+(1)	-(0.4)	-(10)	0,136	0,148	0,284	0,277
9	-(5)	-(5)	-(0.1)	+(2)	-(10)	0,017	0,020	0,070	0,078
10	+(20)	-(5)	-(0.1)	+(2)	+(30)	0,055	0,046	0,233	0,230
11	-(5)	+(20)	-(0.1)	+(2)	+(30)	0,033	0,035	0,179	0,194
12	+(20)	+(20)	-(0.1)	+(2)	-(10)	0,041	0,037	0,096	0,100
13	-(5)	-(5)	+(1)	+(2)	+(30)	0,067	0,061	0,163	0,195
14	+(20)	-(5)	+(1)	+(2)	-(10)	0,055	0,046	0,083	0,106
15	-(5)	+(20)	+(1)	+(2)	-(10)	0,036	0,037	0,085	0,079
16	+(20)	+(20)	+(1)	+(2)	+(30)	0,098	0,096	0,205	0,218

Nota: TE: tempo de eluição; TD: tempo de desorção; CE: concentração do eluente; VE: volume do eluente; M: massa do sorbente.

Com base nos dados obtidos pelo planejamento, foi possível a construção dos Gráficos de Pareto (Figura 21), que representam os efeitos estimados obtidos por tratamento estatístico. As linhas verticais indicam o p-valor igual a 0,05 e quando as barras horizontais são maiores que esse valor, há significância dos fatores (a um nível de 95%).

Figura 21 - Diagrama de Pareto para chumbo (A) e cádmio (B).



Fonte: Autor

As variáveis CE, VE, M, e TE apresentaram efeitos significativos para o Pb^{2+} . Já para o Cd^{2+} , as variáveis VE, M e TE foram significativas. Enquanto a variável TD não apresentou influência para nenhum dos metais avaliados, indicando que 5 min já eram suficiente para a eluição dos analitos adsorvidos.

Quando a massa de sorbente foi aumentada de 10 para 30 mg houve um efeito de contraste positivo para ambos os metais, o que era esperado uma vez que com o aumento da massa do M-RACNT há um aumento da área superficial para a adsorção dos analitos. Contudo, a massa de M-RACNT foi fixada em 30 mg para evitar o uso excessivo de material. Além disso, o volume de eluição foi fixado em 0,4 mL para o Pb^{2+} devido a seu efeito positivo na resposta analítica. O tempo de extração teve uma influência positiva e significativa para Pb^{2+} e Cd^{2+} , mostrando que um maior tempo de contato é necessário para uma melhor extração dos analitos presentes na matriz fortificada pelos M-RACNTs. Por fim, o volume de dessorção teve uma influência negativa quando aumentado de 0,4 para 2,0 mL. Um menor volume de dessorção, desde que seja suficiente para a eluição dos analitos, leva a um maior fator de pré-concentração e, conseqüentemente, melhor resposta analítica.

As variáveis mais significativas mostradas pelos Gráficos de Pareto foram selecionadas e otimizadas pela matriz de Doehlert. Dessa forma, CE e TE foram otimizadas para Pb^{2+} , e VE e TE, para Cd^{2+} . A Tabela 6 apresenta os níveis experimentais, assim como os resultados analíticos para ambos os metais.

Tabela 6 - Níveis experimentais e respostas analíticas otimizadas pela matriz de Doehlert.

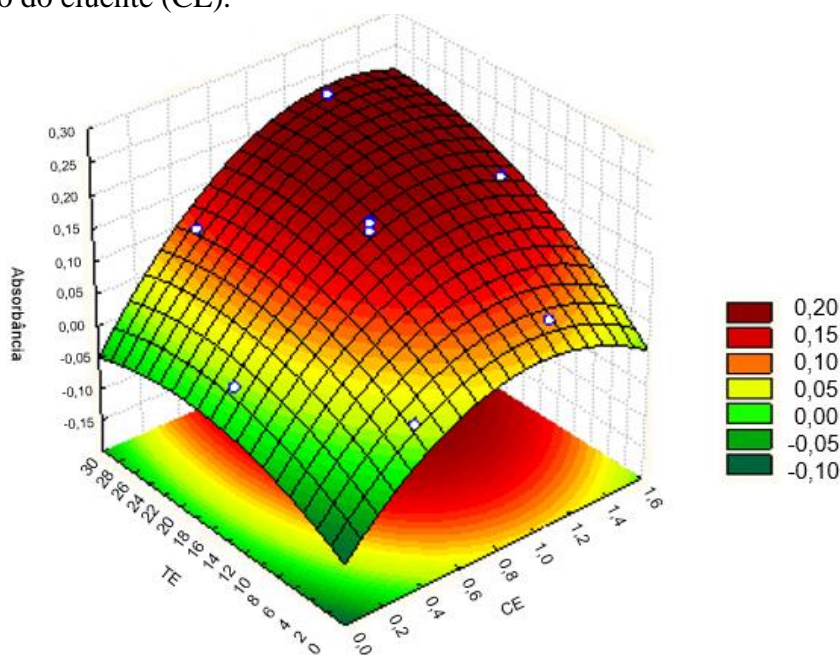
Pb^{2+}					Cd^{2+}						
Fator	Níveis codificados e nível real					Fator	Níveis codificados e nível real				
CE/ mol L ⁻¹	-1 (0,1)	-0,5 (0,45)	0 (0,8)	0,5 (1,15)	1 (1,5)	VE/ mL	-1 (0,4)	-0,5 (0,6)	0 (0,8)	0,5 (1,0)	1 (1,2)
TE/ min		-0,866 (2)	0 (15)	0,866 (28)		TE/ min		-0,866 (2)	0 (15)	0,866 (28)	
Exp	Variáveis		Absorbância	Exp	Variáveis		Absorbância				
	CE	TE			VE	TE					
1	0,8	15	0,182	1	0,8	15	0,432				
1	0,8	15	0,178	1	0,8	15	0,390				
1	0,8	15	0,165	1	0,8	15	0,383				
2	1,5	15	0,165	2	1,2	15	0,310				
3	1,15	28	0,235	3	1,0	28	0,338				
4	0,1	15	0,019	4	0,4	15	0,507				
5	0,45	2	0,025	5	0,6	2	0,385				
6	1,15	2	0,093	6	1,0	2	0,261				
7	0,45	28	0,110	7	0,6	28	0,500				

Fonte: Autor

Para duas variáveis, a matriz Doehlert consiste em um ponto central e mais seis outros pontos adicionais (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). O nível real foi codificado como 0, e quatro

outras condições foram avaliadas para a primeira variável (-1; -0,5; 0,5 e 1) e duas, para a segunda (-0,866 e 0,866). As superfícies de resposta para os valores mais significativos são mostradas abaixo (Figuras 22 e 23).

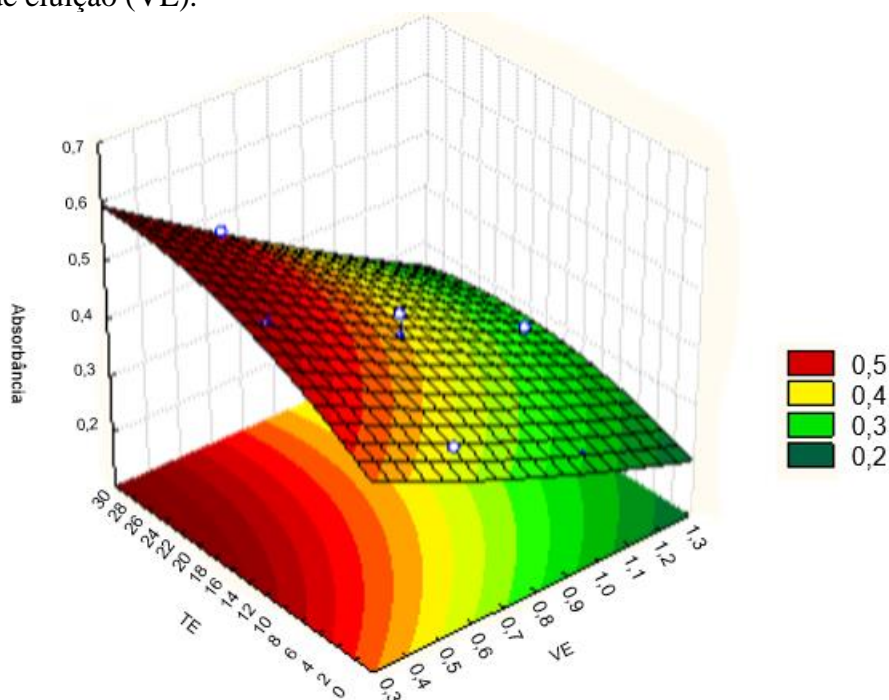
Figura 22 - Superfície de resposta para o Pb^{2+} , a partir do estudo do tempo de extração (TE) e da concentração do eluente (CE).



Fonte: do autor.

Analisando a superfície de resposta, é possível verificar que a melhora do sinal analítico é bastante dependente da concentração do eluente (HNO_3). Para o aumento de 0 até próximo de $1,2 \text{ mol L}^{-1}$, há um aumento significativo nos valores de absorbância. Tuzen et al. (2008) também observaram que a recuperação de Pb após a extração com MWCNTs, aumentou de 85 para 97% quando a concentração do HNO_3 foi aumentada de 0,5 para $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (TUZEN; SAYGI; SOYLAK, 2008). Além disso, ainda pode-se perceber, através da superfície de resposta, uma melhora na extração com os tempos mais longos de contato. No entanto, após 28 min a melhora deixa de ser significativa, mostrando que esse tempo já é suficiente para promover o equilíbrio de extração dos metais a partir do leite fortificado. Os níveis máximos obtidos foram $TE = 28 \text{ min}$ e $CE = 1,26 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 23 - Superfície de resposta para o Cd^{2+} , a partir do estudo do tempo de extração (TE) e do volume de eluição (VE).



Fonte: Autor

A partir da superfície foi possível observar uma diminuição significativa da absorbância com o aumento do volume do solvente extrator (de 0,3 para 1,3 mL), tal qual como previsto pelo Diagrama de Pareto. O volume de 0,4 mL de HNO_3 foi escolhido devido a sua adequada resposta analítica e também por permitir uma agitação mais adequada com os M-RACNTs e um maior volume para a injeção no FAAS, quando comparado ao volume de 0,3 mL). Assim como para o Pb^{2+} , tempos maiores de contato entre o sorbente e a amostra de leite foram necessários para uma melhor recuperação dos metais. Os níveis máximos obtidos foram $\text{TE} = 28$ min, e $\text{VE} = 0,4$ mL.

Os resultados otimizados da etapa de preparo de amostras (d-SPE) são mostrados na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7 - Condições otimizadas para o processo de extração e eluição dos metais pelos nanotubos de carbono magnético de acesso restrito (M-RACNT).

Parâmetro	Analito	
	Pb^{2+}	Cd^{2+}
Volume amostra	45 mL	45 mL

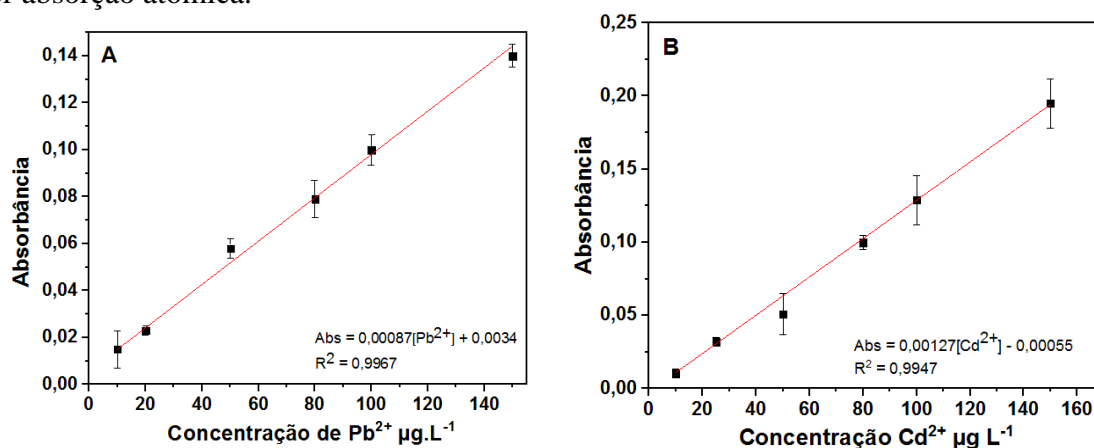
Massa M-RACNT	30 mg	30 mg
pH da amostra	4,0	4,5
Tempo de extração	28 min	28 min
Eluente	HNO ₃ (1,26 mol L ⁻¹)	HNO ₃ (1,00 mol L ⁻¹)
Volume eluente	0,4 mL	0,4 mL
Tempo de dessorção	5 min	5 min

6.7 AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS

As curvas de calibração feitas a partir do leite fortificado (n=5) são mostradas na Figura 24 abaixo. Como pode ser observado, os dados foram adequadamente ajustados com o modelo linear, obtendo-se coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,994 (Tabela 8); assim como o exigido pelos guias de validação. Os métodos analíticos foram validados utilizando leite fortificado para que possíveis efeitos e interferências de compostos da matriz já fossem considerados.

Além disso, a faixa de trabalho comporta os limites máximos de resíduos (MRLs, do inglês *maximum residue level*) para chumbo (20 $\mu\text{g L}^{-1}$) e cádmio (50 $\mu\text{g L}^{-1}$) estabelecidos pela ANVISA. Dessa forma, o método desenvolvido pode ser adequadamente aplicado para as análises desses metais.

Figura 24 - Curva de calibração para chumbo (A) e curva de calibração para cádmio (B). Ambas as curvas foram obtidas a partir de leite fortificado, extraído com os M-RACNTs e analisados por absorção atômica.



Fonte: Autor

Para uma maior confiabilidade, os valores de LOQs (Tabela 8) foram mantidos como os primeiros pontos da curva de calibração; ou seja $10 \mu\text{g L}^{-1}$, para ambos os metais. Já os valores calculados de LOD (Tabela 8) foram de $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb^{2+} e $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cd^{2+} . Os valores dos LOQs são menores do que a metade dos MRLs.

Os resultados para precisão e exatidão inter e intra-dia também são mostrados na Tabela 8 abaixo. Para a precisão, $\text{RSD} (\%) \leq 19,2$ foram obtidos Pb^{2+} e $\text{DPR}\% \leq 17,0$ para Cd^{2+} . Já para a exatidão, valores entre $-19,9$ e $12,5$ foram obtidos para Pb^{2+} e valores entre $-17,9$ e $18,0$; foram obtidos para a Cd^{2+} . Esses resultados estão de acordo com os preditos pelos guias de validação utilizados.

Tabela 8 - Figuras de mérito para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} em amostras de leite fortificadas.

Parâmetro		Pb^{2+}		Cd^{2+}	
Equação		Abs = 0,00087[Pb^{2+}] + 0,0034		Abs = 0,00127[Cd^{2+}] - 0,00055	
R^2		0,9967		0,9947	
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		1,9		3,0	
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		10,0		10,0	
Precisão (RSD, %)	$10 \mu\text{g L}^{-1}$	Intra-dia	Inter-dia	Intra-dia	Inter-dia
	50^a or $100^b \mu\text{g L}^{-1}$	7,3	16,6	19,2	13,3
		6,5	17,0	5,0	10,1

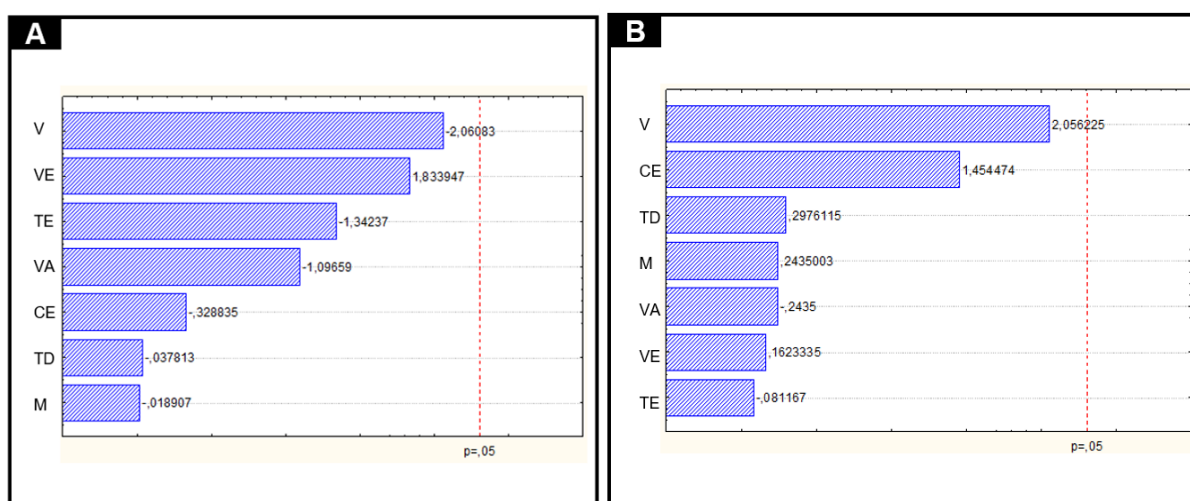
	150 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,1	15,7	8,4	14,5
Exatidão (RE, %)	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	-18,0	-19,9	7,2	18,0
	50 ^a or 100 ^b $\mu\text{g L}^{-1}$	12,5	-8,5	1,2	-17,9
	150 $\mu\text{g L}^{-1}$	-3,0	-5,4	1,0	1,5

Nota: ^a para Pb^{2+} e ^b para Cd^{2+} .

6.8 ENSAIO DE ROBUSTEZ

Como pôde ser observado nos Gráficos de Pareto obtidos (Figura 25), nenhum dos parâmetros analisados foi significativo (p -valor $< 0,05$). Dessa forma, pode-se dizer que pequenas variações para: velocidade de agitação, concentração do eluente (HNO_3), massa de M-RACNT, tempo de dessorção, tempo de extração, não causam alterações significativas para a técnica de d-SPE e o método de determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} por FAAS, assegurando a robustez dos métodos analíticos otimizados.

Figura 25 - Diagrama de Pareto obtido após o ensaio de robustez para Pb^{2+} (A) e Cd^{2+} (B).



Fonte: Autor

Nota: CE: concentração do solvente de eluição; M: massa de M-RACNTs; TD: tempo de dessorção; TE: tempo de extração; V: velocidade de agitação; VA: volume de amostra; VE: volume do solvente de eluição.

Mesmo não sendo significativo, a velocidade de agitação foi o parâmetro com maior alteração nos sinais analíticos para ambos os metais, provavelmente devido a maior diferença

estabelecida para esse parâmetro (500 rpm). Esse resultado reforça a importância do contato entre os M-RACNTs e os analitos para uma extração efetiva.

6.9 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

Os sinais analíticos encontrados para as seis marcas analisadas foram próximos aos obtidos para as amostras branco, indicando que a concentração de Pb^{2+} ou Cd^{2+} nas amostras de leite local estavam abaixo do LOQ e, conseqüentemente, dentro dos limites estabelecidos pela Anvisa.

Por fim, a Tabela 9 traz a comparação do método desenvolvido nesse trabalho com outros já presentes na literatura e utilizados para a determinação de Pb^{2+} e Cd^{2+} em amostras de leite. Pela tabela é possível observar que os métodos em sua maioria utilizam o procedimento de mineralização para o tratamento das amostras. No método proposto, evita-se o uso de elevadas temperaturas, pressões e volumes de ácidos e agentes oxidantes. Os M-RACNTs foram eficientes para a extração dos metais a temperatura ambiente é utilizando um baixo volume de ácido (apenas 0,4 mL de HNO_3 para a etapa de eluição dos metais sorvidos). Além disso, o método desenvolvido apresentou LOQs semelhantes ou menores que outros empregando FAAS (BORAHAN *et al.*, 2019; BOUDEBBOUZ *et al.*, 2022; CAPCAROVA *et al.*, 2019; HASAN; KABIR; MIAH, 2022), sensores (PALISOC *et al.*, 2019), ou técnicas consideradas mais sensíveis, como a ICP-MS (SUJKA *et al.*, 2019). Ainda pode-se dizer que a d-SPE com os M-RACNTs pode ser mais simples e mais rápida que metodologias que utilizam mineralização ou vários ciclos de d-SPE seguidos de microextração líquido-líquido (PARVIZZAD; SOROURADDIN; FARAJZADEH, 2022). Essas características vantajosas somadas à adequada validação do método proposto, mostram que os M-RACNTs são eficientes para a extração de metais de amostras complexas e que o método desenvolvido pode ser aplicado em análises de rotina para verificar a qualidade de leites para consumo.

Tabela 9 - Comparação do método proposto com outros da literatura.

Metal	Amostra	Técnica analítica	Preparo de amostra	LOQ	Faixa analítica	Referência
Pb, Cd, Cu, e Zn	Leite e derivados	ICP-MS	Mineralização	7,0 (Cd) e 10 (Pb) $\mu g Kg^{-1}$	-	(SUJKA <i>et al.</i> , 2019)

Al, Cr, Fe, Cu, Zn, As, Cd, e Pb	Leite cru	ICP-MS	Mineralização	0,8 (Cd) e 2,0 (Pb) $\mu\text{g Kg}^{-1}$	0,01-50 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	(MONTEV ERDE <i>et al.</i> , 2022)
Pb, Cd, Cu, e Zn	Leite pasteurizado	Análise voltamétrica	Mineralização	-	-	(FEIZI <i>et al.</i> , 2020)
Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Fe, e Zn	Leite cru	FAAS	Mineralização	10 (Cd) e 12 (Pb) $\mu\text{g Kg}^{-1}$	-	(BOUDEB BOUZ <i>et al.</i> , 2022)
Ca, Cd, Cu, Fe, Na, Ni, Pb, e Zn	Leite	FAAS	Mineralização	120 (Cd) e 141,1 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$	-	(CAPCAR OVA <i>et al.</i> , 2019)
Cd e Pb	Leite	Sensor eletroquímico	Mineralização assistida por ultrasonicação	0,2 (Cd) e 0,4 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$	1-60 $\mu\text{g L}^{-1}$	(YAO; WU; PING, 2019)
Cd e Pb	Leite UHT-ultraprocessado	Voltametria anódica	Mineralização assistida por ultrasonicação	24,38 e (Cd) 103,57 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$	10-150 $\mu\text{g L}^{-1}$	(PALISOC <i>et al.</i> , 2019)
Al, Zn, As, Cu, Cr, Mn, Pb, Ag, Cd, e Sb	Leite cru	ICP-MS	Mineralização	0,04 (Cd) e 0,065 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$	-	(KOYUNC U; ALWAZER, 2019)
Fe, Cu, Mg, Zn, Pb, Cd, Cr, e As	Leite cru e leite pasteurizado	AAS	Mineralização	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	10 – 5000 g L^{-1}	(HASAN; KABIR; MIAH, 2022)
Cu e Pb	Leite	FAAS	Precipitação de proteínas seguida por MDSPE e DLLME	0,75 (Pb) $\mu\text{g L}^{-1}$	0,75-40 g L^{-1}	(PARVIZZ AD; SOROUR ADDIN; FARAJZA DEH, 2022)
Pb	Leite cru	SQT-FAAS	DES-LPME	29,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	50-1000 g L^{-1}	(BORAHAN <i>et al.</i> , 2019)
Cd e Pb	Leite	FAAS	d-SPE com M-RACNTs	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	10 – 150 g L^{-1}	Esse trabalho

AAS: espectrometria de absorção atômica; DES-LPME: microextração de fase líquida à base de solvente eutético profundo; DLLME: extração líquido-líquido dispersiva; d-SPE: extração em fase sólida dispersiva; FAAS: espectrometria de absorção atômica com chama; ICP-MS: espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado; MDSPE: extração em fase sólida dispersiva magnética; SQT-FAAS: espectrometria de absorção atômica de tubo de quartzo com chama.

7 CONCLUSÃO

O M-RACNT foi adequadamente sintetizado, caracterizado e utilizado como sorvente para a extração de Pb^{2+} e Cd^{2+} de amostras de leite. Além disso, os M-RACNTs apresentaram maior exclusão de proteínas que os M-CNTs para soluções de BSA preparadas em pH 7,5 e em pH 4,0.

A técnica de d-SPE foi otimizada e o método proposto foi totalmente validado, apresentando detectabilidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez adequadas. Ademais, o método se provou robusto para os sete parâmetros avaliados pelo teste de Youden. Níveis traço de Pb^{2+} e Cd^{2+} puderam ser extraídos e os LOQs obtidos foram metade dos limites máximos permitidos pela ANVISA, mostrando a eficiência da técnica para análises desses metais nas amostras de leite.

Uma das principais vantagens do uso da d-SPE é a não necessidade da digestão das amostras. A digestão é a principal técnica encontrada na literatura para a determinação de íons metálicos, e faz uso de condições elevadas de temperatura, pressão e volume de ácidos e reagentes oxidantes. Dessa forma, na técnica desenvolvida nesse trabalho apresenta condições mais brandas e mais seguras. Além disso, a metodologia pode ser considerada simples, com um baixo consumo de solventes e apresenta vantagens de uso comparado com protocolos de mineralização.

O método desenvolvido foi aplicado em seis amostras reais de leite adquiridas no comércio local (Alfenas-MG) e todas elas apresentaram concentrações dos metais abaixo do limite máximo permitido pelas agências regulamentadoras, indicando que estão adequadas para o consumo.

8 REFERÊNCIAS

96/23/EC COMMISSION. 96/23/EC COMMISSION DECISION of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C(2002) 3044) (2002/657/EC). **Official Journal of the European Communities**, [s.l.], p. 29, 2002. ISBN: 9788578110796, ISSN: 1098-6596.

ABDEL-RAHMAN, Gomaa Nour-Eldein. Heavy metals, definition, sources of food contamination, incidence, impacts and remediation: A literature review with recent updates. **Egyptian Journal of Chemistry**, Egypt, v. 65, n. 1, p. 419–437, Jan. 2021. ISSN: 2357-0245, DOI: 10.21608/ejchem.2021.80825.4004.

AHN, Taebien. et al. Formation Pathways of Magnetite Nanoparticles by Coprecipitation Method. **The Journal of Physical Chemistry C**, Washington, DC , v. 116, n. 10, p. 6069–6076, Feb. 2012. ISSN: 1932-7447, DOI: 10.1021/jp211843g.

AL-GHOUTI, Mohammad. A.; DA'ANA, Dana A. Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models: A review. **Journal of hazardous materials**, Netherlands, v. 393, p. 122383, Jan. 2020. ISSN: 1873-3336, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122383.

ALMEIDA, Jorge S. et al. Direct multielement determination of Cd, Pb, Fe, and Mn in ground coffee samples using energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry. **X-Ray Spectrometry**, United Kingdom, v. 50, n. 1, p. 2–8 Jan/Feb. 2021. ISSN: 0049-8246, DOI: 10.1002/xrs.3182.

ALSHEHRI, Reem. et al. Carbon Nanotubes in Biomedical Applications: Factors, Mechanisms, and Remedies of Toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, DC, v. 59, n. 18, p. 8149–8167, May 2016. ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01770.

ANASTASSIADES, Michelangelo. et al. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, Oxford, v. 86, n. 2, p. 412–431, Mar-Apr 2003. ISSN: 1060-3271, DOI: 10.1093/jaoac/86.2.412.

ATKINS, P.; PAULA, J. De. **Atkins Química Física**. Rio de Janeiro:LTC, 2008, v. 1. ISBN 978-85-216-1600-9.

AYRANCI, Erol; DUMAN, Osman. Binding of lead ion to bovine serum albumin studied by ion selective electrode. **Protein and peptide letters**, Netherlands, v. 11, n. 4, p. 331–7, Aug. 2004. ISSN: 0929-8665, DOI: 10.2174/0929866043406814.

BADAWY, Mohamed E. I. et al. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. **Analytical Sciences**, Japan, v. 38, n. 12, p. 1457–1487, Jan. 2022. ISSN: 0910-6340, DOI: 10.1007/s44211-022-00190-8.

BALALI-MOOD, Mahdi. et al. Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. **Frontiers in Pharmacology**, Switzerland , v. 12, Apr.

2021. ISSN: 1663-9812, DOI: 10.3389/fphar.2021.643972.

BALDUINO, Jonathan Saulo. **Síntese e caracterização de nanotubos de carbono de acesso restrito magnéticos e seu uso para extração de Cu e Zn de Cu, Zn-superoxido dismutase**. 2018. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 30 de jan. de 2018.

BALI, Mahmoud.; TLILI, H. Removal of heavy metals from wastewater using infiltration-percolation process and adsorption on activated carbon. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Iran, v. 16, n. 1, p. 249–258, Jan./Dec. 2019. ISSN: 1735-1472, DOI: 10.1007/s13762-018-1663-5.

BARBOSA, Adriano F. et al. Restricted access carbon nanotubes for direct extraction of cadmium from human serum samples followed by atomic absorption spectrometry analysis. **Talanta**, Netherlands, v. 131, p. 213–220, Jan. 2015. ISSN: 00399140, DOI: 10.1016/j.talanta.2014.07.051.

BARBOSA, Valéria Maria Pereira. et al. Direct extraction of lead (II) from untreated human blood serum using restricted access carbon nanotubes and its determination by atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Netherlands, v. 147, p. 478–484, Jan. 2016. ISSN: 00399140, DOI: 10.1016/j.talanta.2015.10.023.

BARROS NETO, B., SCARMINO, I. S., & BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na indústria**. 4ed. Porto Alegre: Bookman, 2007. 480 p. ISBN: 9788526807532.

BEHNAMFARD, Ali.; SALARIRAD, Mohammad Mehdi. Equilibrium and kinetic studies on free cyanide adsorption from aqueous solution by activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 170, n. 1, p. 127–133, Oct. 2009. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.04.124.

BELIN, T.; EPRON, F. Characterization methods of carbon nanotubes: A review. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, United Kingdom, v. 119, n. 2, p. 105–118, May 2005. ISSN: 09215107, DOI: 10.1016/j.mseb.2005.02.046.

BOOS, Karl-Siegfried.; GRIMM, Carl-Heinz. High-performance liquid chromatography integrated solid-phase extraction in bioanalysis using restricted access precolumn packings. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Netherlands, v. 18, n. 3, p. 175–180, Mar. 1999. ISSN: 01659936, DOI: 10.1016/S0165-9936(98)00102-2.

BORAHAN, T. et al. Determination of lead in milk samples using vortex assisted deep eutectic solvent based liquid phase microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry system. **Food Chemistry**, England, v. 299, p. 125065, June 2019. ISSN: 18737072, DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125065.

BOUDEBBOUZ, Ali. et al. Determination of heavy metal levels and health risk assessment of raw cow milk in guelma region, algeria. **Biological trace element research**, United States, v. 201, n. 4, p. 1704-1716, Apr. 2023. ISSN: 1559-0720, DOI: 10.1007/s12011-022-03308-1.

BURGUERA, José L.; BURGUERA, M. Recent on-line processing procedures for biological samples for determination of trace elements by atomic spectrometric methods. **Spectrochimica**

Acta - Part B Atomic Spectroscopy, Netherlands, v. 64, n. 6, p. 451–458, June 2009. ISSN: 05848547, DOI: 10.1016/j.sab.2009.01.004.

CABRERA, Lizara da Costa. et al. Extração em Fase Sólida Dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos. **Scientia Chromatographica**, Brasil, v. 4, n. 3, p. 227–240, 2012. DOI: 10.4322/sc.2012.013.

ÇALIMLI, Mehmet Harbi. et al. Immobilization kinetics and mechanism of bovine serum albumin on diatomite clay from aqueous solutions. **Applied Water Science**, Germany, v. 8, n. 7, p. 209, 2018. ISSN: 2190-5487, DOI: 10.1007/s13201-018-0858-8.

CAMPAÑA, A. M. García. et al. Sequential response surface methodology for multioptimization in analytical chemistry with three-variable Doehlert designs. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 348, n. 1–3, p. 237–246, 1997. ISBN: 0003-2670.

CAMPOS DO LAGO, Ayla. et al. Magnetic restricted-access carbon nanotubes for dispersive solid phase extraction of organophosphates pesticides from bovine milk samples. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 1102, p. 11–23, Mar. 2020. ISSN: 18734324, DOI: 9.

CAPCAROVA, Marcela. et al. Levels of essential and xenobiotic elements and their relationships in milk available on the slovak market with the estimation of consumer exposure. **Biological Trace Element Research**, United States, v. 188, n. 2, p. 404–411, Mar. 2019. ISSN: 0163-4984, DOI: 10.1007/s12011-018-1424-9.

CASTRO-GONZÁLEZ, Numa Pompilio. et al. Heavy metals in cow's milk and cheese produced in areas irrigated with waste water in Puebla, Mexico. **Food Additives & Contaminants: Part B**, England, v. 11, n. 1, p. 33–36, 2018. ISSN: 1939-3210, DOI: 10.1080/19393210.2017.1397060.

CHANEY, Rufus L.; OLIVER, Danielle P. Sources, potential adverse effects and remediation of agricultural soil contaminants. In: aidu, R., Kookana, R.S., Oliver, D.P., Rogers, S., McLaughlin, M.J. (eds). **Contaminants and the Soil Environment in the Australasia-Pacific Region**. Dordrecht: Springer, 1996, p. 323–359. DOI: 10.1007/978-94-009-1626-5_11.

CHEN, Changlun. et al. Adsorption behavior of multiwall carbon nanotube/iron oxide magnetic composites for Ni(II) and Sr(II). **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 164, n. 2–3, p. 923, May 2009. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.08.089.

CHEN, Changlun; WANG, Xiangke. Adsorption of Ni(II) from aqueous solution using Oxidized multiwall carbon nanotubes. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, DC, v. 45, n. 26, p. 9144–9149, Nov. 2006. ISSN: 08885885, DOI: 10.1021/ie060791z.

CHEN, Fang-Fang; XIE, Xiao-Yu; SHI, Yan-Ping. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for selective recognition of resveratrol in wine. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1300, p. 112–118, July 2013. ISSN: 00219673, DOI: 10.1016/j.chroma.2013.02.018.

CHEN, Han. et al. Determination of Heavy Metal Ions in Infant Milk Powder Using a Nanoporous Carbon Modified Disposable Sensor. **Foods**, Switzerland, v. 12, n. 4, p. 730, 2023. ISSN: 2304-8158, DOI: 10.3390/foods12040730.

CHICO, J. et al. Restricted access materials for sample clean-up in the analysis of trace levels of tetracyclines by liquid chromatography. Application to food and environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1181, n. 1–2, p. 1–8, Feb. 2008. ISSN: 00219673, DOI: 10.1016/j.chroma.2007.12.033.

COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced Inorganic Chemistry**. 6 ed. New York: John Wiley & Sons, 1999. ISBN: 0-471-02775-8.

CRUZ, Jonas Carneiro. et al. Restricted access carbon nanotube for microextraction by packed sorbent to determine antipsychotics in plasma samples by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Germany, v. 412, n. 11, p. 2465–2475, 2020. ISSN: 1618-2642, DOI: 10.1007/s00216-020-02464-4.

DAI, Liming; HE, Pingang; LI, Sinan. Functionalized surfaces based on polymers and carbon nanotubes for some biomedical and optoelectronic applications. **Nanotechnology**, [s.l.], v. 14, n. 10, p. 1081–1097, Oct. 2003. ISSN: 0957-4484, DOI: 10.1088/0957-4484/14/10/305.

DANESHVAR TARIGH, Ghazale.; SHEMIRANI, Farzaneh. Magnetic multi-wall carbon nanotube nanocomposite as an adsorbent for preconcentration and determination of lead (II) and manganese (II) in various matrices. **Talanta**, Netherlands, v. 115, p. 744–750, Oct. 2013. ISSN: 00399140, DOI: 10.1016/j.talanta.2013.06.018.

DU, Bin. et al. A novel restricted access material combined to molecularly imprinted polymers for selective solid-phase extraction and high performance liquid chromatography determination of 2-methoxyestradiol in plasma samples. **Talanta**, Netherlands, v. 129, p. 465–472, Nov. 2014. ISSN: 0039-9140, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.005>.

DUARTE, Rogéria P. Saez; PASQUAL, Antenor. Avaliação do cádmio (Cd), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. **Energia na Agricultura**, São Paulo, v. 15, p. 46–58, 2000. ISBN: 0091-7613, ISSN: 0091-7613.

ELIK, Adil; DEMIRBAŞ, Ahmet; ALTUNAY, Nail. Experimental design of ligandless sonication-assisted liquid- phases microextraction based on hydrophobic deep eutectic solvents for accurate determination of Pb(II) and Cd(II) from waters and food samples at trace levels. **Food Chemistry**, England, v. 371, p. 131138, Mar. 2022. ISSN: 03088146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.131138.

ES'HAGHI, Zarrin; EBRAHIMI, Mahmoud.; HOSSEINI, Mohammed-Saeid. Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced sol-gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorial experimental design. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1218, n. 21, p. 3400–3406, May 2011. ISSN: 00219673, DOI: 10.1016/j.chroma.2011.03.043.

ETHAIB, Saleem. et al. Function of Nanomaterials in Removing Heavy Metals for Water and Wastewater Remediation: A Review. **Environments**, [s.l.], v. 9, n. 10, Oct. 2022. ISSN: 2076-3298, DOI: 10.3390/environments9100123.

F MARSH H., & R.-R. **Activated Carbon**. 1 ed. Elsevier Science & Technology Books, 2006. ISSN: 0272-9172.

FARAJI, Mohammad; SHIRANI, Mahboub; RASHIDI-NODEH, Hamid. The recent advances in magnetic sorbents and their applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Netherlands, v. 141, p. 116302, Aug. 2021. ISSN: 0165-9936, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116302>.

FARIA, Henrique Dipe. et al. Direct extraction of tetracyclines from bovine milk using restricted access carbon nanotubes in a column switching liquid chromatography system. **Food Chemistry**, England, v. 225, p. 98–106, June 2017. ISSN: 18737072, DOI: [10.1016/j.foodchem.2017.01.004](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.004).

FARIA, Henrique Dipe. et al. New advances in restricted access materials for sample preparation: A review. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 959, p. 43–65, Mar. 2017. ISSN: 00032670, DOI: [10.1016/j.aca.2016.12.047](https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.12.047).

FDA. Guidance for industry: bioanalytical method validation (FDA). **US Food and Drug Administration**, Rockville US Department of Health and Human Services., p. 34, 2013.

FEIZI, Rozhan. et al. Determination and health risk assessment of heavy metals (Pb, Cd, Cu and Zn) in different brands of pasteurized milk. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, Netherlands, [s.v], p. 1–12, 2020. ISSN: 0306-7319, DOI: [10.1080/03067319.2020.1817908](https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1817908).

FERNANDES, Lisane Heinem; MAINIER, Fernando Benedicto. Os Riscos da Exposição Ocupacional ao Cádmiio. **Sistemas & Gestão**, Niterói, v. 9, n. 2, p. 194–199, Jun. 2014. DOI: [10.7177/sg.2014.v9.n2.a3](https://doi.org/10.7177/sg.2014.v9.n2.a3).

FERREIRA, Sérgio L. C. et al. Application of Doehlert designs for optimisation of an on-line preconcentration system for copper determination by flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, Netherlands, v. 61, n. 3, p. 295–303, Nov. 2003. ISSN: 1873-3573 (Electronic), DOI: [10.1016/S0039-9140\(03\)00277-7](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00277-7).

FERREIRA, Sérgio L. C. et al. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review. **Talanta**, Netherlands, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, July 2004. ISSN: 00399140, DOI: [10.1016/j.talanta.2004.01.015](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015).

Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 145, n. 3, p. 358–367, July 2007. ISSN: 03043894, DOI: [10.1016/j.jhazmat.2007.03.077](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.03.077).

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, Netherlands, v. 156, n. 1, p. 2–10, Jan. 2010. ISSN: 13858947, DOI: [10.1016/j.cej.2009.09.013](https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.013).

FRUGERI, Pedro Mendes. et al. Magnetic restricted-access carbon nanotubes for the extraction/pre-concentration of organophosphates from food samples followed by spectrophotometric determination. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Netherlands, v. 241, p. 118632, Nov. 2020. ISSN: 13861425, DOI: [10.1016/j.saa.2020.118632](https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118632).

FURTADO, Liliam Quelem Tavares. **Desenvolvimento de metodologia analítica utilizando sistema em fluxo e casca de arroz para pré-concentração de chumbo em amostras de sedimento**. 2018. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Goiás,

Catalão, 15 de jul. de 2018.

GARBALIŃSKA, Halina; BOCHENEK, Magdalena; STASIAK, Maecin. Experimental and Modeling Investigations on the Water Sorption Behaviors of Autoclaved Aerated Concrete. **Materials**, [s.l.], v. 14, n. 21, p. 6235, Nov. 2021. ISSN: 1996-1944, DOI: 10.3390/ma14216235.

GILES, C. H. et al. Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, United Kingdom, n. 0, p. 3973, 1960. ISSN: 0368-1769, DOI: 10.1039/jr9600003973.

GONÇALVES, José Rubens; MESQUITA, Albenones; GONÇALVES, Renata Moreira. Determinação De Metais Pesados Em Leite Integral Bovino Pasteurizado No Estado De Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 365–374, 2008. ISSN: 1809-6891.

HAGESTAM, I. Helene; PINKERTON, Thomas C. Internal surface reversed-phase silica supports for liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, Netherlands, v. 57, n. 8, p. 1757–1763, June1985. ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/ac00285a058.

HAMMOND, P. B.; ARONSON, A. L. LEAD POISONING IN CATTLE AND HORSES IN THE VICINITY OF A SMELTER. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 111, n. 2, p. 595–611, Apr. 1964. ISSN: 17496632, DOI: 10.1111/j.1749-6632.1964.tb53128.x.

HASAN, G. M. M. A.; KABIR, M. H.; MIAH, M. A. S. Determination of heavy metals in raw and pasteurized liquid milk of Bangladesh to assess the potential health risks. **Food Research**, United States of America, v. 6, n. 1, p. 233–237, Feb. 2022. ISSN: 25502166, DOI: 10.26656/fr.2017.6(1).191.

HE, Juan. et al. Novel restricted access materials combined to molecularly imprinted polymers for selective solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from honey. **Food Chemistry**, England, v. 187, p. 331–337, Nov. 2015. ISSN: 0308-8146, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.069>.

HERBST, Marcelo Hawrylak; FERNANDES MACÊDO, Maria Iaponeide; ROCCO, Ana Maria. Tecnologia dos nanotubos de carbono: Tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 986–992, dez. 2004. ISSN: 01004042, DOI: 10.1590/S0100-40422004000600025.

HO, Yuh-Shan. Review of second-order models for adsorption systems. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 136, n. 3, p. 681–689, Aug. 2006. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.12.043.

HUSSAIN, Chaudhery Mustansar; SARIDARA, Chutarat; MITRA, Somenath. Modifying the sorption properties of multi-walled carbon nanotubes via covalent functionalization. **The Analyst**, England, v. 134, n. 9, p. 1928–1933, Sep. 2009. ISSN: 1364-5528 (Electronic), DOI: 10.1039/b823316k.

IJIMA, Sumio. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, London, v. 354, n. 6348, p. 56–58, Nov. 1991. ISSN: 00280836, DOI: 10.1038/354056a0.

ISMAIL, Amir. et al. Estimated daily intake and health risk of heavy metals by consumption of milk. **Food Additives & Contaminants: Part B**, England, v. 8, n. 4, p. 1–6, 2015. ISSN: 1939-3210, DOI: 10.1080/19393210.2015.1081989.

JARDIM, Valéria Cristina. et al. Restricted access material as sorbent for in-tube-LC-UV to determine sulfonamides in milk samples. **Scientia Chromatographica**, Brasil, v. 6, n.4, p. 267–276, 2014. ISSN: 19844433, DOI: 10.4322/sc.2015.011.

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. **Journal of Dairy Science**, United States of America, v. 89, n. 4, p. 1302–1310, Apr. 2006. ISSN: 00220302, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1.

JIANG, Wen. et al. The effect of $[\text{Fe}^{3+}]/[\text{Fe}^{2+}]$ molar ratio and iron salts concentration on the properties of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the water/ethanol/toluene system. **Journal of Nanoparticle Research**, Netherlands, v. 13, n. 10, p. 5135–5145, Sep. 2011. ISSN: 1388-0764, DOI: 10.1007/s11051-011-0495-8.

KAJAMA, M. N. Hydrogen permeation using nanostructured silica membranes. **Sustainable Development and Planning VII**, United Kingdom, v.190, p. 447-456, 2015. DOI: 10.2495/sdp150381.

KHALFAOUI, M. et al. New theoretical expressions for the five adsorption type isotherms classified by BET based on statistical physics treatment. **Journal of Colloid and Interface Science**, United States, v. 263, n. 2, p. 350–356, July 2003. ISSN: 00219797, DOI: 10.1016/S0021-9797(03)00139-5.

KITAHARA, Kei-Ichi. et al. Synthesis of monodispersed molecularly imprinted polymer particles for high-performance liquid chromatographic separation of cholesterol using templating polymerization in porous silica gel bound with cholesterol molecules on its surface. **Journal of chromatography. A**, Netherlands, v. 1217, n. 46, p. 7249–7254, Nov. 2010. ISSN: 1873-3778 (Electronic), DOI: 10.1016/j.chroma.2010.09.041.

KOROLEV, V. V.; AREFYEV, I. M.; RAMAZANOVA, A. G. The magnetocaloric effect of superfine magnets. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Netherlands, v. 92, n. 3, p. 691–695, July 2008. ISSN: 1388-6150, DOI: 10.1007/s10973-008-9018-y.

KOYUNCU, Mubin; ALWAZEER, Duried. Determination of trace elements, heavy metals, and antimony in polyethylene terephthalate–bottled local raw cow milk of Iğdir region in Turkey. **Environmental Monitoring and Assessment**, Netherlands, v. 191, n 11, p. 666, Oct. 2019. ISSN: 0167-6369, DOI: 10.1007/s10661-019-7851-z.

KUMAR, K.; SIVANESAN, S. Pseudo second order kinetics and pseudo isotherms for malachite green onto activated carbon: Comparison of linear and non-linear regression methods. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 136, n. 3, p. 721–726, Aug. 2006. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.01.003.

KUMAR, K. V. Linear and non-linear regression analysis for the sorption kinetics of methylene blue onto activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 137, n. 3, p. 1538–1544, Oct. 2006. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.04.036.

KUNO, R. et al. Lead concentration in blood samples of humans and animals near an industrial waste dump in Sao Paulo, Brazil. **Veterinary and human toxicology**, United States, v. 41, n.

4, p. 249–251, Aug. 1999. ISSN: 0145-6296 (Print).

LEHOTAY, Steven J. et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. **Journal of chromatography. A**, Netherlands, v. 1217, n. 16, p. 2548–2560, Apr. 2010. ISSN: 1873-3778 (Electronic), DOI: 10.1016/j.chroma.2010.01.044.

LI, Ruijun. et al. Multiwalled carbon nanotubes modified with 2-aminobenzothiazole modified for uniquely selective solid-phase extraction and determination of Pb(II) ion in water samples. **Microchimica Acta**, Austria, v. 172, n. 3, p. 269–276, Oct. 2011. ISSN: 1436-5073, DOI: 10.1007/s00604-010-0488-9.

LI, Yan-Hui. et al. Lead adsorption on carbon nanotubes. **Chemical Physics Letters**, Netherlands, v. 357, n. 3–4, p. 263–266, May 2002. ISSN: 00092614, DOI: 10.1016/S0009-2614(02)00502-X.

LI, Yan-Hui. et al. Adsorption of fluoride from water by amorphous alumina supported on carbon nanotubes. **Chemical Physics Letters**, Netherlands, v. 350, n. 5–6, p. 412–416, Dec. 2001. ISSN: 00092614, DOI: 10.1016/S0009-2614(01)01351-3.

LIMA, Marcela Marília De. et al. On-line restricted access molecularly imprinted solid phase extraction of ivermectin in meat samples followed by HPLC-UV analysis. **Food Chemistry**, England, v. 197, p. 7–13, Apr. 2016. ISSN: 18737072, DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.082.

LIMA, Virginia Verônica De; CASSIANO, Neila Maria; CASS, Quezia Bezerra. Development of restricted-access media chromatographic columns protein-immobilized and their evaluation for the analysis of drugs by direct injection of human plasma. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 72–78, feb. 2006. ISSN: 01004042, DOI: 10.1590/s0100-40422006000100015.

LIU, Hong-Ying. et al. Prussian Blue Analogue of Copper-Cobalt Decorated with Multi-Walled Carbon Nanotubes Based Electrochemical Sensor for Sensitive Determination of Nitrite in Food Samples. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, China, v. 47, n. 6, p. e19066–e19072, June 2019. ISSN: 18722040, DOI: 10.1016/S1872-2040(19)61168-0.

LU, Chungsyng; CHUNG, Yao-Lei.; CHANG, Kuan-Foo. Adsorption of trihalomethanes from water with carbon nanotubes. **Water Research**, United Kingdom, v. 39, n. 6, p. 1183–1189, Mar. 2005. ISSN: 00431354, DOI: 10.1016/j.watres.2004.12.033.

LV, Y.-K. et al. Layer-by-layer fabrication of restricted access media-molecularly imprinted magnetic microspheres for magnetic dispersion microextraction of bisphenol A from milk samples. **New Journal of Chemistry**, France, v. 39, n. 3, p. 1792–1799, Mar. 2015. ISSN: 1144-0546, DOI: 10.1039/C4NJ01882F.

MARAZUELA, M. D.; BOGIALLI, S. A review of novel strategies of sample preparation for the determination of antibacterial residues in foodstuffs using liquid chromatography-based analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 645, n. 1–2, p. 5–17, July 2009. ISSN: 00032670, DOI: 10.1016/j.aca.2009.04.031.

MARTINS, A. I. ; BATAGLIA, O. Produção de grãos e absorção de cu, fe, mn e zn pelo milho em solo adubado com lodo de esgoto, com e sem calcário (1) seção ix -poluição do solo e qualidade ambiental. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, Brasil, n. 2, p. 564–574, jun. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832003000300018>.

MEDDA, Luca; MONDUZZI, Maura; SALIS, Andrea. The molecular motion of bovine serum albumin under physiological conditions is ion specific. **Chemical communications**, Cambridge, v. 51, n. 30, p. 6663–6, Apr. 2015. ISSN: 1364-548X, DOI: 10.1039/c5cc01538c.

MEHDINIA, Ali; ROOHI, Fateme; JABBARI, Ali. Rapid magnetic solid phase extraction with in situ derivatization of methylmercury in seawater by Fe₃O₄/polyaniline nanoparticle. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1218, n. 28, p. 4269–4274, July 2011. ISSN: 00219673, DOI: 10.1016/j.chroma.2011.04.070.

MENDES, Tássia Venga. et al. Synthesis and characterization of a new magnetic restricted access molecularly imprinted polymer for biological sample preparation. **Materials Today Communications**, Netherlands, v. 24, , p. 101002, Jan. 2020. ISSN: 23524928, DOI: 10.1016/j.mtcomm.2020.101002.

MENEZES, M. L.; FÈLIX, G. On Line Extraction and Separation of Bendiocarb, Methomyl, Methylparathion, and Pentachlorophenol Pesticides from Raw Milk. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, United States, v. 21, n. 18, p. 2863–2871, 1998. DOI: 10.1080/10826079808003449.

MIEDICO, O. et al. Trace elements in sheep and goat milk samples from Apulia and Basilicata regions (Italy): Valuation by multivariate data analysis. **Small Ruminant Research**, Netherlands , v. 135, p. 60–65, Feb. 2016. ISSN: 09214488, DOI: 10.1016/j.smallrumres.2015.12.019.

MONTEVERDE, Vincenzo. et al. Heavy Metal Levels in Milk and Serum of Dairy Cows from Different Farms Located near an Industrial Area. **Animals**, , v. 12, n. 19, [s.p] 2022. DOI: 10.3390/ani12192574. Switzerland

MOZAFFARI MAJD, Mahdih. et al. Adsorption isotherm models: A comprehensive and systematic review (2010–2020). **Science of The Total Environment**, Netherlands, v. 812, p. 151334, Mar. 2022. ISSN: 00489697, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151334.

MULLAPUDI, Venkata Balarama Krishna. et al. Development of a simple and rapid microwave-assisted extraction method using very dilute solutions of perchloric acid and hydrogen peroxide for the multi-elemental analysis of food materials by ICP-OES: A green analytical method. **Microchemical Journal**, United States of America, v. 146, p. 807–817, May 2019. ISSN: 0026265X, DOI: 10.1016/j.microc.2019.02.006.

NAJARNEZHAD, Vahid. et al. Lead and cadmium in raw buffalo, cow and ewe milk from west Azerbaijan, Iran. **Food Additives & Contaminants: Part B**, United Kingdom, v. 8, n. 2, p. 123–127, 2015. ISSN: 1939-3210, DOI: 10.1080/19393210.2015.1007396.

NAKHJAVAN, Bahar; BLAND, Jason; KHOSRAVIFARD, Maryam. Optimization of a multiresidue analysis of 65 pesticides in surface water using solid-phase extraction by LC-MS/MS. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 21, p. 6627, Nov. 2021. ISSN: 1420-3049, DOI: 10.3390/molecules26216627.

NALBANDIAN, L. et al. Hydrothermally prepared nanocrystalline Mn–Zn ferrites: Synthesis and characterization. **Microporous and Mesoporous Materials**, Netherlands, v. 114, n. 1–3, p. 465–473, Sep. 2008. ISSN: 13871811, DOI: 10.1016/j.micromeso.2008.01.034.

NASCIMENTO, Luiz Fernand C.; IZÁRIO FILHO, Hélcio José; BALTAZAR, Eduardo de

Oliveira. Níveis de chumbo em colostro humano: Um estudo no Vale do Paraíba. **Revista Brasileira de Saude Materno Infantil**, Recife, v. 6, n. 1, p. 69–74, mar. 2006. ISSN: 15193829, DOI: 10.1590/S1519-38292006000100008.

NASCIMENTO, R. F. Do et al. **Adsorção: Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC), 2014. 256 p. ISBN: 978-85-7485-186-0.

NECHAR, Mounir. et al. The application of Doehlert designs in the optimization of experimental variables in solid phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v. 316, n. 2, p. 185–193, Nov. 1995. ISSN: 00032670, DOI: 10.1016/0003-2670(95)00351-Y.

OBENG-GYASI, Emmanuel. Sources of lead exposure in various countries. **Reviews on Environmental Health**, Germany, v. 34, n. 1, p. 25–34, Mar. 2019. ISSN: 2191-0308, DOI: 10.1515/reveh-2018-0037.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. de O. **Fundamentos da Toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 2008. 677 p.

OHS, Burkhard; KRÖDEL, Maximilian; WESSLING, Matthias. Adsorption of carbon dioxide on solid amine-functionalized sorbents: A dual kinetic model. **Separation and Purification Technology**, Netherlands, v. 204, p. 13–20, Apr. 2018. ISSN: 13835866, DOI: 10.1016/j.seppur.2018.04.009.

OLIVEIRA ISAC MORAES, Gabriel de. et al. A new restricted access molecularly imprinted polymer capped with albumin for direct extraction of drugs from biological matrices: The case of chlorpromazine in human plasma. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Germany, v. 405, n. 24, p. 7687–7696, Aug. 2013. ISSN: 16182642, DOI: 10.1007/s00216-013-7275-5.

OLIVEIRA, Tatiane Milão De. et al. Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries. *Food Chemistry*, England, v. 229, p. 721–725, Aug. 2017. ISSN: 03088146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.02.143.

P. J. ROBINSON, P. DUNNILL, M. D. L. The properties of Magnetic Supports in Relation to Immobilized Enzyme Reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, Germany, v. 15, n. 3, p. 603-606, may. 1973. ISBN: 260150318, DOI: 10.1002/260150318.

PALISOC, Shirley. et al. Electrochemical detection of lead and cadmium in UHT-processed milk using bismuth nanoparticles/Nafion®-modified pencil graphite electrode. **Sensing and Bio-Sensing Research**, Netherlands, v. 23, p. 100268, Jan. 2019. ISSN: 22141804, DOI: 10.1016/j.sbsr.2019.100268.

PARVIZZAD, Kosar; SOROURADDIN, Saeed Mohammad; FARAJZADEH, Mir Ali. Preparation of a magnetic sorbent based on Tanacetum extract and its application in the extraction of Cu(II) and Pb(II) ions from milk performed in a narrow-bore tube followed by dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, United States, v. 112, p. 104654, Sep. 2022. ISSN: 08891575, DOI: 10.1016/j.jfca.2022.104654.

PENG, Xianjia. et al. Adsorption of 1,2-dichlorobenzene from water to carbon nanotubes. **Chemical Physics Letters**, Netherlands, v. 376, n. 1–2, p. 154–158, July 2003. ISSN:

00092614, DOI: 10.1016/S0009-2614(03)00960-6.

Ceria nanoparticles supported on carbon nanotubes for the removal of arsenate from water. **Materials Letters**, Netherlands, v. 59, n. 4, p. 399–403, Feb. 2005. ISSN: 0167577X, DOI: 10.1016/j.matlet.2004.05.090.

PERALTA-ZAMORA, Patricio; MORAIS, Josmaria Lopes De; NAGATA, Noemi. Por que otimização multivariada? **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 106–110, jun. 2005. DOI: 10.1590/s1413-41522005000200003.

PÉREZ-CARRERA, Alejo L.; ARELLANO, Flavia E.; FERNÁNDEZ-CIRELLI, Alice. Concentration of trace elements in raw milk from cows in the southeast of Córdoba province, Argentina. **Dairy Science & Technology**, Champaign, v. 96, n. 5, p. 591–602, May 2016. ISSN: 1958-5586, DOI: 10.1007/s13594-016-0290-5.

PIETROBELLI, Juliana M. T. de Abreu. et al. Avaliação da capacidade de remoção dos íons cádmio (ii) e zinco (ii) pela macrófita egeria densa. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, Rio de Janeiro, ed. 28, p. 1–9, jun. 2013.

PRAJAPATI, Shiv Kumar. et al. Hyaluronic acid conjugated multi-walled carbon nanotubes for colon cancer targeting. **International Journal of Biological Macromolecules**, Netherlands, v. 123, p. 691–703, Feb. 2019. ISSN: 01418130, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.116.

QUEIROZ, Sonia. C. N.; COLLINS, Carol. H.; JARDIM, Isabel. C. S. F. Methods of extraction and/or concentration of compounds found in biological fluids for subsequent chromatographic determination. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, Feb. 2001. ISSN: 01004042.

RANGEL, Otacílio José Passos. et al. Efeitos de aplicações de lodos de esgoto sobre os teores de metais pesados em folhas e grãos de milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 30, p. 583, Jun. 2006.

REILLY, C. **Metal Contamination of Food**. 2 ed. London: Elsevier Applied Science, 1991. 284 p.

RIBEIRO MENEZES, Iohanna M. N. et al. Simple and Robust GFAAS Methods for Determination of As, Cd, and Pb in Hemp Products Using Different Sample Preparation Strategies. **Food Analytical Methods**, United States, v. 14, n. 5, p. 1043–1053, 2021. ISSN: 1936-9751, DOI: 10.1007/s12161-020-01958-2.

ROBERT M. SILVERSTEIN; FRANCIS X. WEBSTER; KIEMLE DAVID J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2014. 499 p.

ROCHA, C. R. **Desenvolvimento de método para análise de leite por espectrometria de fluorescência de raios X por reflexão total**. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 24 de fev. de 2015.

SAFARIKOVA, Mirka; SAFARIK, Ivo. Magnetic solid-phase extraction. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, Netherlands, v. 194, n. 1-3, p. 108–112, Apr. 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-8853\(98\)00566-6](https://doi.org/10.1016/S0304-8853(98)00566-6).

SALAM, Mohamed Abdel; AL-ZHRANI, Ghaliya; KOSA, Samia A. Simultaneous removal of copper(II), lead(II), zinc(II) and cadmium(II) from aqueous solutions by multi-walled carbon

nanotubes. **Comptes Rendus Chimie**, France, v. 15, n. 5, p. 398–408, May 2012. ISSN: 16310748, DOI: 10.1016/j.crci.2012.01.013.

SANTOS, Rodrigo Campos dos et al. Characterization and application of restricted access carbon nanotubes in online extraction of anticonvulsant drugs from plasma samples followed by liquid chromatography analysis. **Journal of Chromatography B**, Netherlands, v. 1054, p. 50–56, June 2017. ISSN: 1570-0232, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.02.025>.

SANTOS, Walter N. L. Dos; SANTOS, Carla M. C.; FERREIRA, Sérgio L. C. Application of three-variables Doehlert matrix for optimisation of an on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, United States of America, v. 75, n. 3, p. 211–221, Dec. 2003. ISSN: 0026265X, DOI: 10.1016/S0026-265X(03)00099-7.

SEGOVIA-SANDOVAL, Sonia Judith. et al. Simultaneous removal of metronidazole and Pb(II) from aqueous solution onto bifunctional activated carbons. **Environmental Science and Pollution Research**, Germany, v. 26, n. 25, p. 25916–25931, July 2019. ISSN: 1614-7499, DOI: 10.1007/s11356-019-05857-w.

SERESHTI, Hassan. et al. Removal of phosphate and nitrate ions aqueous using strontium magnetic graphene oxide nanocomposite: Isotherms, kinetics, and thermodynamics studies. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, New York, v. 39, n. 2, p. e13332, Mar./Apr. 2020. ISSN: 1944-7442, DOI: 10.1002/ep.13332.

SHAHBAZI, Yasser; AHMADI, Farhad; FAKHARI, Fakhari. Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals. **Food chemistry**, England, v. 192, p. 1060–1067, Feb. 2016. ISSN: 1873-7072 (Electronic), DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.123.

SHENG, Guodong. et al. Adsorption of copper(II) on multiwalled carbon nanotubes in the absence and presence of humic or fulvic acids. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 178, n. 1–3, p. 333–340, June 2010. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.084.

SING, K. S. W. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and Applied Chemistry**, United States, v. 57, n. 4, p. 603–619, 1985. ISSN: 1365-3075, DOI: 10.1351/pac198557040603.

SITKO, Rafal; ZAWISZA, Beata; MALICKA, Ewa. Modification of carbon nanotubes for preconcentration, separation and determination of trace-metal ions. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Netherlands, v. 37, p. 22–31, July/Aug. 2012. ISSN: 01659936, DOI: 10.1016/j.trac.2012.03.016.

ŠOLIĆ, Marko. et al. Removing low levels of Cd(II) and Pb(II) by adsorption on two types of oxidized multiwalled carbon nanotubes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, United Kingdom, v. 9, n. 4, p. 105402, Aug. 2021. ISSN: 22133437, DOI: 10.1016/j.jece.2021.105402.

SOUZA FILHO, Antônio Gomes De; FAGAN, Solange Binotto. Funcionalização de nanotubos de Carbono. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 7, p. 1695–1703, 2007. ISSN: 0100-4042,

DOI: 10.1590/s0100-40422007000700037.

SRIVASTAVA, A. K.; GUPTA, B. N. The role of human hairs in health and disease with special reference to environmental exposures. **Veterinary and human toxicology**, United States, v. 36, n. 6, p. 556–560, Dec. 1994. ISSN: 0145-6296 (Print).

STAFIEJ, Anna; PYRZYNSKA, Krystyna. Solid phase extraction of metal ions using carbon nanotubes. **Microchemical Journal**, United States of America, v. 89, n. 1, p. 29–33, June 2008. ISSN: 0026265X, DOI: 10.1016/j.microc.2007.11.001.

SUHARTONO, E. et al. Study of Interaction between Cadmium and Bovine Serum Albumin with UV-Vis Spectroscopy Approach. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, United Kingdom, v. 350, n. 1, p. 012008, 2018. ISSN: 1757-8981, DOI: 10.1088/1757-899X/350/1/012008.

SUJKA, Monika. et al. Determination of the content of Pb, Cd, Cu, Zn in dairy products from various regions of Poland. **Open Chemistry**, Germany, v. 17, n. 1, p. 694–702, 2019. ISSN: 23915420, DOI: 10.1515/chem-2019-0072.

SUTUROVIĆ, Zvonimir. et al. Determination of heavy metals in milk and fermented milk products by potentiometric stripping analysis with constant inverse current in the analytical step. **Food chemistry**, England, v. 155, p. 120–125, July 2014. ISSN: 0308-8146, DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.030.

SWARUP, D. et al. Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; Transfer of lead into milk. **Science of the Total Environment**, Netherlands, v. 349, n.1–3, p. 67–71, Oct. 2005. ISSN: 00489697, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.12.079.

TEÓFILO, Reinaldo F.; FERREIRA, Márcia M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 338–350, abr. 2006. ISSN: 0100-4042, DOI: 10.1590/S0100-40422006000200026.

THI MAI HOA, Le. Characterization of multi-walled carbon nanotubes functionalized by a mixture of HNO₃/H₂SO₄. **Diamond and Related Materials**, Netherlands, v. 89, p. 43–51, Oct. 2018. ISSN: 09259635, DOI: 10.1016/j.diamond.2018.08.008.

TUZEN, Mustafa; SAYGI, Kadriye O.; SOYLAK, Mustafa. Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 152, n. 2, p. 632–639, Apr. 2008. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.07.026.

VALE, Maria Goreti R. et al. Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, United States of America, v. 77, n. 2, p. 131–140, Aug. 2004. ISSN: 0026265X, DOI: 10.1016/j.microc.2004.02.007.

WALSTRA, P. et al. **Dairy science and sechnology**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2005. 2005 p. ISBN: 9780429116148, DOI: 10.1201/9781420028010.

WANG, Jianlong; GUO, Xuan. Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods. **Journal of Hazardous Materials**, Netherlands, v. 390, p. 122156, May 2020. ISSN: 03043894, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122156.

WHO. Food and Agriculture Organization. **International Organization**, [s.l.], v. 2, n. 1, p. 119–122, 1948. ISSN: 0020-8183, DOI: 10.1017/S0020818300019305.

WU, Feng-Chin. et al. A new linear form analysis of Redlich–Peterson isotherm equation for the adsorptions of dyes. **Chemical Engineering Journal**, Netherlands, v. 162, n. 1, p. 21–27, Aug. 2010. ISSN: 13858947, DOI: 10.1016/j.cej.2010.03.006.

XIONG, Wei; CHENG, Chunsheng; YANG, Yaling. Determination of total chromium in tea samples by suspension dispersive solid phase extraction combined with silver nanoparticles and using flame atomic absorption spectrometry. **Anal. Methods**, United Kingdom, v. 7, n. 5, p. 2093–2099, Mar. 2015. DOI: 10.1039/C4AY02628D.

YAN, Hai. et al. Adsorption of microcystins by carbon nanotubes. **Chemosphere**, United Kingdom, v. 62, n. 1, p. 142–148, Jan. 2006. ISSN: 00456535, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.03.075.

YAO, Yao; WU, Hao; PING, Jianfeng. Simultaneous determination of Cd(II) and Pb(II) ions in honey and milk samples using a single-walled carbon nanohorns modified screen-printed electrochemical sensor. **Food Chemistry**, England, v. 274, p. 8–15, Feb. 2019. ISSN: 18737072, DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.08.110.

YU, Wei; XIE, Huaqing. A review on nanofluids: Preparation, stability mechanisms, and applications. **Journal of Nanomaterials**, United States, v. 2012, n. 1, p. 1-17, Jan. 2012. ISSN: 16874110, DOI: 10.1155/2012/435873.

ZÁRATE-QUIÑONES, Rosa Haydeé. et al. Determination of toxic metals in commonly consumed medicinal plants largely used in Peru by ICP-MS and their impact on human health. **Chemical Data Collections**, Netherlands, v. 33, p. 100711, June 2021. ISSN: 24058300, DOI: 10.1016/j.cdc.2021.100711.

ZARBIN, Aldo J. G. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, Dec. 2007. ISSN: 0100-4042, DOI: 10.1590/S0100-40422007000600016.

ZHAO, Wen-Sheng. et al. Mini-Review: Modeling and Performance Analysis of Nanocarbon Interconnects. **Applied Sciences**, Switzerland, v. 9, n. 11, p. 2174, June 2019. ISSN: 2076-3417, DOI: 10.3390/app9112174.

ZHAO, X. et al. Preparation of high-grade carbon nanotubes by hydrogen arc discharge. **Carbon**, United Kingdom, v. 35, n. 6, p. 775–781, 1997. ISSN: 00086223, DOI: 10.1016/S0008-6223(97)00033-X.

ZHOU, Yanqiang. et al. Restricted access magnetic imprinted microspheres for directly selective extraction of tetracycline veterinary drugs from complex samples. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v. 1613, p. 460684, Feb. 2020. ISSN: 0021-9673, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460684>.

ZUORRO, Antonio.; LAVECCHIA, Roberto. Experimental study on the interaction between lead and serum albumin. **Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering**, Margaret River, v. 7, n. S3, p. S329–S334, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/apj.1652>.

